

# **Häufigkeit und Profil der ASS-Resistenz bei Patienten mit akuten kardiologischen Erkrankungen im Vergleich zu gesunden Probanden**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät der  
Friedrich-Schiller-Universität Jena

von **Tina Kaden**  
geboren am 22. Oktober 1984 in Suhl

Gutachter:

1.....

2.....

3.....

Tag der öffentlichen Verteidigung:

## Abkürzungsverzeichnis

<sup>14</sup> C-SRA	Serotonin-Release-Assay
Abb.	Abbildung
A.p.	Angina pectoris
ADP	Adenosindiphosphat
AG	Arbeitsgruppe
AI	Adhäsionsindex
AK	Antikörper
AKS	Akutes Koronarsyndrom
ARU	Aspirinreaktionseinheiten
ASS	Acetylsalicylsäure
CD	Cluster of Differentiation
COX	Zyklooxygenase
ELISA	enzyme-linked immuno sorbent assay
GP	Glykoprotein
HIT-II	Heparin-induzierte Thrombozytopenie Typ II
ICAM-1	intercellular adhesion molecule-1
IgG	Immunglobulin G
INR	International Normalized Ratio
K/DOQI	Clinical Practice Guidelines for Bone Metabolism and Disease in Chronic Kidney Disease
KHK	Koronare Herzkrankheit
KIM-I	Klinik für Innere Medizin I Jena
MCP-1	monocyte chemoattractant protein-1
MPV	mean platelet volume
MW	Mittelwert
NFκB	Nuklear-Faktor-κB
NO	Stickstoffmonoxid
NSAR	nichtsteroidale Antirheumatika
NSTEMI	Non-ST-Elevated-Myocardial-Infarction, Nicht-ST-Hebungsinfarkt
OR	Odds Ratio

PADA	Platelet ADhesion Assay
PADA-HIT	Platelet ADhesion Assay zur Diagnostik der Heparin-induzierten Thrombozytopenie
PADA-RASS	Platelet ADhesion Assay zur Diagnostik der Resistenz gegenüber ASS
PAF	plättchenaktivierender Faktor
PAI-1	plasminogen activator inhibitor-1
PAR	protease activated receptors
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PCI	perkutane koronare Intervention
PDGF	platelet derived growth factor
PF-4	Plättchenfaktor-4
PFA	Platelet Function Analyzer
PLT	Blutplättchen
PRASA	paradoxical reaction on ASA
PTCA	perkutane transluminale Koronarangioplastie
RPFA	Rapid Platelet Function Analyzer
STEMI	ST-segment elevation myocardial infarction, ST-Hebungsinfarkt
TIA	transitorische ischämische Attacke
tPA	tissue plasminogen activator
TXA <sub>2</sub>	Thromboxan A <sub>2</sub>
TXB <sub>2</sub>	Thromboxan B <sub>2</sub>
vs.	versus
vWF	von-Willebrand-Faktor
VZ	Verschlusszeit
Z.n.	Zustand nach

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	I
Inhaltsverzeichnis.....	III
1 Zusammenfassung.....	1
2 Einleitung.....	3
2.1 Hinführung zum Thema.....	3
2.2 Wissenschaftlicher Hintergrund.....	3
2.2.1 Das Blutplättchen.....	3
2.2.1.1 Morphologie der humanen Blutplättchen.....	4
2.2.1.2 Bedeutung der Blutplättchen für die Hämostase.....	5
2.2.1.3 Pathophysiologie der Blutplättchenaktivierung.....	9
2.2.2 Die Acetylsalicylsäure als antithrombozytäre Substanz.....	11
2.2.2.1 Geschichtliches.....	11
2.2.2.2 Wirkmechanismus und Pharmakologie der Acetylsalicylsäure.....	12
2.2.2.3 Acetylsalicylsäure in der therapeutischen Anwendung.....	13
2.2.3 Die ASS-Resistenz.....	17
2.2.3.1 Begriff, Prävalenz, Ursachen und klinische Relevanz der ASS-Resistenz.....	17
2.2.3.2 ASS-Resistenz-Diagnostik.....	22
3 Ziele der Arbeit .....	25
4 Methodik.....	27
4.1 Charakteristika der Studienpopulationen.....	27
4.1.1 Gesunde Probanden.....	27
4.1.2 Patienten.....	29
4.2 Untersuchungsmaterialien .....	32
4.2.1 Geräte .....	32
4.2.2 Testkits und gebrauchsfertige Komponenten.....	32
4.2.3 Verbrauchsmaterial.....	33
4.2.4 Chemikalien und Reagenzien.....	33
4.3 Methoden.....	33
4.3.1 Darstellung der Studie.....	33
4.3.2 Entnahme und Weiterverarbeitung der Blutproben.....	34

4.3.3 Testprinzip des PADA.....	34
4.3.4 Testprinzip des PADA-HIT.....	36
4.3.4.1 Testdurchführung des PADA und des PADA-HIT .....	37
4.3.4.2 Auswertung des PADA und PADA-HIT.....	38
4.3.5 Testprinzip des PADA-RASS .....	39
4.3.5.1 Testdurchführung des PADA-RASS .....	40
4.3.5.2 Auswertung des PADA-RASS.....	41
4.3.5.3 Durchführung der Parallelmessungen .....	41
4.3.6 Testprinzip des PFA-100®.....	41
4.3.6.1 Testdurchführung und Auswertung der PFA-100®-Vergleichsmessungen.....	42
4.3.6.2 Modifizierung des PFA-100®.....	43
4.4 Statistische Angaben.....	43
5 Ergebnisse.....	46
5.1 Plättchendiagnostik in den Studienkollektiven.....	46
5.1.1 Plättchenzahlen der Probanden und Patienten.....	46
5.1.2 Vergleich der Plättchenzahlen zwischen den Studienkollektiven.....	46
5.2 Plättchenfunktionsdiagnostik mit dem PADA.....	47
5.2.1 Plättchenadhäsivität der Probanden.....	47
5.2.2 Plättchenadhäsivität der Patienten.....	50
5.2.3 Vergleich der Plättchenadhäsivität zwischen den beiden Studienpopulationen.....	54
5.3 Plättchenuntersuchungen mit dem PADA-HIT.....	57
5.3.1 Adhäsionsindizes im Heparinblut.....	58
5.3.2 Häufigkeit von HIT-II-Antikörpern in den Studienkollektiven.....	58
5.3.3 Zusammenhang zwischen HIT-II-AK-Status und vorhergehender Heparin-Medikation.....	60
5.4 ASS-Resistenz-Diagnostik mit dem PADA-RASS.....	61
5.4.1 ASS-Resistenz-Diagnostik bei den Probanden.....	61
5.4.1.1 Adhäsionsindizes im Heparinblut ohne und mit ASS.....	61
5.4.1.2 Profil und Häufigkeit der ASS-Resistenz bei den Probanden.....	62
5.4.1.3 Zusammenhang zwischen ASS-Resistenz-Status und ausgewählten Parametern.....	62
5.4.2 ASS-Resistenz-Diagnostik bei den Patienten.....	65

5.4.2.1 Adhäsionsindizes im Heparinblut ohne und mit ASS .....	65
5.4.2.2 Profil und Häufigkeit der ASS-Resistenz bei den Patienten.....	66
5.4.2.3 Zusammenhang zwischen ASS-Resistenz-Status und ausgewählten Parametern.....	66
5.4.3 Vergleich des Profils und der Häufigkeit der ASS-Resistenz zwischen den Studienkollektiven.....	68
5.4.4 Evaluation der PADA-RASS-Methode.....	71
5.4.4.1 Evaluation des Zeitpunktes der Messung als möglicher Einflussfaktor des Messergebnisses.....	71
5.4.4.2 Evaluation der Reproduzierbarkeit der PADA-RASS-Methode.....	72
5.4.4.3 Evaluation der Vergleichbarkeit der Messergebnisse des PADA-RASS mit denen des PFA-100® .....	73
5.4.4.4 Modifizierung des PFA-100® entsprechend des Testprinzips des PADA-RASS.....	74
5.4.4.5 Messtechnische Probleme.....	76
6 Diskussion.....	77
6.1 Diskussion der Konzeption der Studie.....	77
6.2 Diskussion der Methodik des PADA-RASS.....	78
6.3 Diskussion der Ergebnisse.....	85
6.3.1 Ergebnisse der PADA-Messungen.....	85
6.3.2 Ergebnisse der PADA-HIT-Messungen.....	89
6.3.3 Ergebnisse der PADA-RASS-Messungen.....	91
7 Schlussfolgerung.....	100
8 Literatur- und Quellenverzeichnis.....	103
9 Anhang.....	143
9.1 Probanden- und Patientenaufklärungen.....	143
9.2 Probandeninformation und Einverständniserklärung.....	146
9.3 Fragebogen .....	147
9.4 Veröffentlichungen im Rahmen dieser Arbeit.....	149
9.5 Lebenslauf.....	150
9.6 Danksagung.....	151
9.7 Ehrenwörtliche Erklärung .....	152





# 1 Zusammenfassung

Aufgrund der zentralen pathophysiologischen Bedeutung der Blutplättchen bei akuten und chronischen Gerinnungskrankheiten ist die Acetylsalicylsäure (ASS) das Standardmedikament zu deren Prophylaxe. Obwohl eine Vielzahl von Studien die Wirksamkeit der ASS zur Prävention und Prognoseverbesserung in verschiedenen Risikokollektiven belegen konnte, zeigten in den vergangenen Jahren zahlreiche Untersuchungen, dass ASS die Blutplättchenfunktion in bestimmten Patientengruppen nur unzureichend hemmt. Das Konzept der ASS-Resistenz entstand, eine Problematik von hoher Komplexität, für deren Entstehung multifaktorielle Mechanismen postuliert worden sind. Die Mehrzahl dieser Studien illustriert einen deutlichen Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer Resistenz gegenüber ASS und einem schlechten Langzeitverlauf sowie relevanten vaskulären Ereignissen. Die Definition dieses Phänomens wird nach wie vor kontrovers diskutiert, die ermittelten Prävalenzen zeigen eine enorme Spannweite und es fehlt aktuell an einer validierten und standardisierten Nachweismethode. Die ASS-Resistenz wurde nur in sehr wenigen Studien bei gesunden Probanden untersucht, ein unmittelbarer Vergleich eines gesunden Probandenkollektivs mit einer klinisch relevanten Patientengruppe erfolgte nicht. Vor diesem Hintergrund war es das Hauptziel der vorliegenden Arbeit, die Häufigkeit der ASS-Resistenz bei kardiovaskulären Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden zu bestimmen sowie etwaige Assoziationen zwischen Vorerkrankungen bzw. kardiovaskulären Risikofaktoren und einer veränderten Prävalenz der ASS-Resistenz zu ermitteln. Hierbei wurde der sogenannte PADA-RASS (=Platelet **A**dhesion **A**ssay zur Messung der **R**esistenz gegenüber **A**SS) als ein neuer Plättchenfunktionstest zur ASS-Resistenz-Diagnostik angewandt und evaluiert. Zur Vervollständigung der Plättchenfunktionsmessungen wurden zusätzlich die Plättchenadhäsivität sowie plättchengebundene HIT-II-Antikörper gemessen. Im Rahmen dieser prospektiven Diagnostikstudie wurden insgesamt 100 Probanden sowie 87 kardiovaskuläre Patienten der Klinik für Innere Medizin I des Universitätsklinikums Jena rekrutiert. Die angewandte Methode, der PADA-RASS, stellt eine Modifikation des PADA (=Platelet **A**dhesion **A**ssay) dar und arbeitet mit heparinantikoaguliertem Vollblut und definierten Scherkräften. Zusätzlich bietet der PADA-RASS die Möglichkeit der ASS-Resistenz-

Bestimmung unabhängig von einer vorhergehenden ASS-Einnahme. Es erfolgt eine in-vitro-Zugabe der ASS, womit die Erstellung einer Bezugsprobe ohne ASS realisiert werden kann. Als Resultate konnten neben den ASS-Respondern zwei verschiedene ASS-Resistenz-Gruppen detektiert werden: Die ASS-Nonresponse, bei der die Blutplättchen keine Reaktion auf ASS zeigen, und die sogenannte PRASA (**p**aradoxical **r**ea**ct**ion on **A**SA), bei der statt einer ASS-vermittelten Hemmung der Thrombozyten eine Aktivierung beobachtet werden kann. Diese paradoxe Plättchenaktivierung durch ASS im heparinisiertem Blut stellt ein wesentliches und relevantes Ergebnis dar. In der vorliegenden Studie waren die Häufigkeiten der ASS-Nonresponse mit 36 % bei den gesunden Probanden und 26,4 % bei den Patienten sowie die Prävalenzen der PRASA mit 38 % bei den Probanden und 58,6 % bei den Patienten unerwartet hoch. Hauptbefundlich zeigte sich ein signifikanter Unterschied des ASS-Resistenz-Profiles zwischen den Studienkollektiven im Sinne eines häufigeren Auftretens der ASS-Resistenz bei den Patienten ( $p = 0,016$ ). Im Vergleich zu den Probanden konnte ein signifikant selteneres Auftreten einer ASS-Response sowie ein signifikant häufigeres Vorkommen einer PRASA bei Patienten mit einer koronaren Herzerkrankung ( $p = 0,007$ ), einem akuten Koronarsyndrom ( $p = 0,015$ ), einer Herzinsuffizienz ( $p = 0,020$ ), einem Diabetes mellitus ( $p = 0,020$ ), einer Hyperlipidämie ( $p = 0,047$ ) sowie nach einer stattgehabten perkutanen Koronarintervention ( $p = 0,003$ ) festgestellt werden. In der Evaluation des PADA-RASS zeigte sich bezüglich der Reproduzierbarkeit eine gute Konsistenz der Messergebnisse (Cohen's Kappa: 0,697). Ein Zusammenhang zwischen den ermittelten Messresultaten und dem Zeitpunkt der Messungen, dem Alter und Geschlecht, den Blutbildparametern sowie einer vorhergehenden gerinnungshemmenden Therapie konnte im Studienkollektiv nicht nachgewiesen werden. Demgegenüber stellte sich eine schlechte Vergleichbarkeit mit dem PFA-100® heraus (Cohen's Kappa: -0,059), die selbst nach dessen Modifikation nur geringfügig verbessert werden konnte (Cohen's Kappa: 0,206). Die vorliegende Untersuchung stellt die erste Analyse zur ASS-Resistenz-Diagnostik mit Hilfe des PADA-RASS dar. In sich anschließenden Untersuchungen muss gezeigt werden, inwieweit die ermittelten Ergebnisse, vor allem im Hinblick auf die PRASA, klinische Relevanz besitzen und verifiziert werden können. Eine weitere Evaluation der Anwendung des PADA-RASS in der ASS-Resistenz-Diagnostik ist erstrebenswert.

## **2 Einleitung**

### **2.1 Hinführung zum Thema**

Arterielle Thrombosen gelten als der wesentliche Auslöser von Myokardinfarkten und ischämischen Schlaganfällen. Damit stellen sie die häufigste Todesursache in den Industrienationen dar (Zetzl und Schubert-Zsilavecz 2009). Ursächlich spielen Blutplättchen bei der Entstehung der Arteriosklerose und der arteriellen Thrombose eine zentrale Rolle und beeinflussen zusätzlich entscheidend die Prognose der leitliniengerechten Standardtherapie. Zur Prophylaxe akuter kardio- und cerebrovaskulärer Erkrankungen werden somit in erster Linie Thrombozytenaggregationshemmer, hierunter vorwiegend die Acetylsalicylsäure, eingesetzt. Die langjährige Einnahme von ASS zur Primär- und Sekundärprävention dieser Erkrankungen erfolgt weltweit millionenfach, auch ohne ärztliche Indikationsgebung und Überwachung (Nowak 2007). Bei einem beachtenswerten Anteil der so behandelten Patienten kommt es jedoch trotz regelmäßiger Einnahme wiederholt zu arteriothrombotischen Ereignissen (Antiplatelet Trialists' Collaboration 2002). Zusätzlich zeigte sich eine enorme Variabilität der Plättchenantwort auf ASS ex vivo. Basierend auf diesen Erkenntnissen entwickelte sich das Konzept der ASS-Resistenz.

### **2.2 Wissenschaftlicher Hintergrund**

#### **2.2.1 Das Blutplättchen**

Seit der erstmaligen Beschreibung der Blutplättchen als ein eigenständiger „Formbestandteil des Blutes“ (Bizzozzo 1882) erfuhr das Wissen über die Physiologie und Pathophysiologie der Blutplättchen einen enormen Zuwachs. Über viele Jahrzehnte wurde die Funktion der Thrombozyten in erster Linie an den Kernprozessen der primären Blutstillung gutgeschrieben (Andrews et al. 1997). Daneben sind sie aber auch am komplexen System der Gerinnung (Jurk und Kehrel 2005) sowie an Entzündungsprozessen beteiligt (DiCicco et al. 1996, Elzey et al. 2003). Aus pathophysiologischer Sicht spielen die Blutplättchen als „first responsible elements“ eine zentrale Rolle bei der arteriellen Thrombose und Arteriosklerose (Fuster et al.

1988, Vorchheimer und Becker 2006).

### 2.2.1.1 Morphologie der humanen Blutplättchen

Die kernlosen Blutplättchen sind mit einem Durchmesser von 2-4  $\mu\text{m}$  die kleinsten korpuskulären Bestandteile des zirkulierenden Blutes. Sie stammen aus dem Zytoplasma der Megakaryozyten. Durch Fragmentierung dieser spezialisierten Vorläuferzellen werden die Blutplättchen aus dem roten Knochenmark in die Blutbahn abgegeben (Gewirtz und Poncz 1991, Tavassoli 1980, Youssefian et al. 1997) und zirkulieren mit einer durchschnittlichen Anzahl von 150 000 bis 300 000 pro Mikroliter im peripheren Blut. Die physiologische Lebensspanne eines menschlichen Blutplättchens beträgt sieben bis zehn Tage, wobei der Abbau im retikuloendothelialen System von Milz und Leber erfolgt. Etwa ein Drittel des Blutplättchenpools ist in der Milz gespeichert und steht im ständigen Austausch mit dem zirkulierenden Kompartiment. Im ruhenden Zustand weisen die Plättchen eine diskoidale Gestalt mit einer mittleren Oberfläche von 8  $\mu\text{m}^2$  auf. Die Ultrastruktur der Plättchen kann anhand morphologischer Kriterien in vier Bereiche unterteilt werden (Mackie und Neal 1988, Morgenstern 1997): Die **periphere Zone** besteht aus der Zytoplasmamembran, einer klassischen Lipiddoppelschicht mit eingebetteten Membranproteinen und einer typisch asymmetrischen Verteilung der Phospholipide. Die Plasmamembran ist extrazellulär mit einer dünnen Schicht umhüllt, welche eine Vielzahl an Glykoproteinen enthält (Glykokalyx). Diese übernehmen als Oberflächenrezeptoren spezifische Funktionen. Nach der Bindung eines Liganden an dessen spezifischen Rezeptor auf der Thrombozytenoberfläche kommt es durch Aktivierung eines „Second-messenger-Mechanismus“ zu einer entsprechenden thrombozytären Stoffwechselantwort (Outside-In-Signal) (Shattil et al. 1994). Das zytoplasmatische Calcium wird dabei als der dominante Second-messenger der Plättchenaktivierung angesehen (Jackson et al. 2003). Im Bereich der **strukturellen Zone** befinden sich submembranös gelegene Mikrotubuli und das Zytoskelett, das vorwiegend aus Aktinfilamenten besteht. Dieses fibrilläre, kontraktile System hält durch Verankerung mit der Plasmamembran die typische diskoidale Ruheform des Blutplättchens aufrecht und ermöglicht die Formveränderung des aktivierten Plättchens (Fox 1993). Die darauffolgende **Zone der Organellen** enthält

das Zytoplasma und die darin eingebetteten Mitochondrien, Glykogenspeicher, Lysosomen und Speichergranula, welche wiederum in dichte Granula (dense bodies) und Alpha-Granula unterteilt werden. Die dense bodies enthalten aggregationsfördernde Substanzen, darunter hauptsächlich Adenosindiphosphat (ADP), Serotonin und Calcium. Die Alpha-Granula, die zahlenmäßig am häufigsten vertreten sind, enthalten Adhäsionsproteine wie beispielsweise Fibrinogen und den von-Willebrand-Faktor (vWF), Gerinnungsfaktoren, Faktoren der Fibrinolyse sowie zytokinähnliche Proteine (Plättchenfaktor-4) und Wachstumsfaktoren (Harrison und Cramer 1993). Weiterhin enthält die Membran der Alpha-Granula als eine Art interner Speicherpool Glykoprotein-IIb/IIIa-Moleküle (GPIIb/IIIa). Das **Membransystem** als letzte Zone der Ultrastruktur des Blutplättchens lässt sich in das offene kanalikuläre System und das dichte tubuläre System unterteilen. Erstgenanntes besteht aus gewundenen Kanälen, die weit in das Plättcheninnere hinein reichen und mit der Plasmamembran sowie über Porenöffnungen mit dem Extrazellularraum verbunden sind. Das dichte tubuläre System ist ein geschlossenes Kanalsystem und dient als Speicherreservoir für Calcium.

#### **2.2.1.2 Bedeutung der Blutplättchen für die Hämostase**

Der Begriff der Hämostase umfasst die Blutstillung nach Verletzung der Gefäßwandintegrität und kann in die primäre und sekundäre Hämostase unterteilt werden. Während der primären Hämostase kommt es durch Adhäsion, Aktivierung und Aggregation der Blutplättchen zur Formation eines fragilen, plättchenreichen Thrombus. Dieser wird im Verlauf der sekundären Hämostase verfestigt und kann somit die Gefäßwandverletzung gegenüber dem Blutstrom stabil abdichten.

##### Primäre Hämostase

Den Blutplättchen kommt eine zentrale Rolle bei der primären Hämostase zu. Unter physiologischen Bedingungen zirkulieren die Blutplättchen in einem ruhenden Zustand in der Blutbahn, ohne dabei miteinander oder mit der Gefäßwand zu interagieren (Fitzgerald und Philips 1987). Eine Verletzung der schützenden Endothelschicht führt jedoch zur Freilegung subendothelialer Matrix-Strukturen. Dadurch kommt es im Bereich der Gefäßwandläsion unmittelbar zur **Plättchenadhäsion** (Ruggeri 1994,

Ruggeri und Mendolicchio 2007, Sixma et al. 1995). Bestandteile der extrazellulären Matrix sind beispielsweise verschiedene Kollagentypen und adhäsive Plasmaproteine, wie der vWF und Fibrinogen. Diese Adhäsivproteine werden infolge einer Immobilisierung an die extrazelluläre Matrix in ihrer Konformation so verändert, dass eine Interaktion mit den jeweiligen Plättchenrezeptoren möglich ist (Ruggeri 2006). In kleinlumigen Gefäßen (Mikrozirkulation), in denen hohe Scherkräfte wirken, wird der erste Kontakt durch die Interaktion zwischen kollagenimmobilisiertem vWF und dem Glykoprotein-Komplex Ib-V-IX auf der Plättchenoberfläche hergestellt (Sakariassen et al. 1979, Stel et al. 1985). Dieser Vorgang ist durch eine hohe Bindungsstärke gekennzeichnet, wodurch die Plättchen auch in Gefäßbereichen mit hohem Scherstress „eingefangen“ werden können (Clemetson und Clemetson 1995). Über weitere membranständige Rezeptoren wird die Endothel-Adhäsion schließlich stabilisiert. Die korrespondierenden Plättchenrezeptoren hierbei sind GPVI und GPIa/IIa, welche unter statischen oder niedrigen Scherkraft-Bedingungen auch direkt mit Kollagen interagieren können (Nieuwenhuis et al. 1985); weiterhin GPIIb/IIIa, das in der Ruheform lokal immobilisiertes Fibrinogen erkennt sowie mehrere sogenannte Integrine, wie beispielsweise Laminin- und Fibronectinrezeptoren. Nachdem die Anlagerung von Plättchen an die verletzte Gefäßwand stattgefunden hat, erfolgt als nächster Reaktionsschritt die **Plättchenaktivierung**. Hierbei spielt unter anderem die Interaktion der Blutplättchen mit Kollagen eine entscheidende Rolle (Kehrel 1995). Die Plättchenaktivierung generell kann durch verschiedenartige mechanische und biochemische Faktoren initialisiert werden. Hierzu zählen neben Kollagen zahlreiche weitere Aggregations-Agonisten, wie beispielsweise ADP, Thrombin, Thromboxan A<sub>2</sub>, Adrenalin, Plättchenaktivierender Faktor (PAF), Serotonin, Immunkomplexe, Komplementfaktoren etc.; aber auch das Quervernetzen von Rezeptoren oder Veränderungen an der Plättchenmembran. Die Plättchenaktivierung ist assoziiert mit einem Formwandel („shape change“), der Plättchensekretion, der Aktivierung von GPIIb/IIIa-Rezeptoren („Fibrinogen-Rezeptoren“) und damit der Ermöglichung der Aggregation sowie der Induktion eines prokoagulatorischen Zustandes der Blutplättchen.

Während der Aktivierung kommt es zu komplexen intrazellulären Vorgängen, die vor allem mit einer Veränderung des Zytoskelettes der Plättchen einhergehen. Dadurch wird

eine Gestaltänderung der Plättchen bewirkt (Fox 1993). Hierbei erfolgt die Ausbildung von sogenannten Pseudopodien und das offene Kanalsystem wird als Membranreservoir evaginiert. Dadurch wird einerseits eine effektive Abdichtung der Gefäßläsion durch die flächenhafte Ausbreitung der Blutplättchen („spreading“) begünstigt, andererseits eine Vergrößerung der Plättchenoberfläche auf  $13\text{ }\mu\text{m}^2$  und damit eine Verstärkung der plättchenabhängigen hämostatischen Mechanismen erreicht (Gawaz 1999). Ferner kommt es infolge des Formwandels zur Degranulation der Plättchen (Sekretion). Die Granulainhaltsstoffe können sowohl autokrin den Aktivierungsvorgang verstärken als auch parakrin durch die Stimulation von noch ruhenden Thrombozyten diese rekrutieren und zur Aggregation mit bereits adhären Plättchen anregen (Siess 1989). Die dabei involvierten Agonisten sind vor allem ADP, Serotonin und Thromboxan.

Der Begriff der **Aggregation** deklariert den Vorgang der Koadhäsion zwischen zwei Plättchen, wobei zwischen primärer und sekundärer Aggregation unterschieden werden kann. Während der primären Phase erfolgt eine instabile, reversible Vernetzung der Plättchen über GPIIb/IIIa-Rezeptoren („Fibrinogenbrücken“), wohingegen die sekundäre, verzögerte Aggregation durch Formveränderung und Entleerung der Speichergranula irreversibel ist. Eine zentrale Bedeutung für die Aggregation kommt den GPIIb/IIIa-Rezeptoren zu. Auf der Oberfläche eines ruhenden Plättchens befinden sich etwa 40 000 bis 50 000 Kopien dieser Komplexe. Infolge des oben beschriebenen Formwandels und durch die Fusion der Alpha-Granulamembran mit der Plättchenmembran während der Sekretion wird die Anzahl der GPIIb/IIIa-Rezeptoren noch weiter erhöht (Woods et al. 1986). GPIIb/IIIa ist essentiell für die Aggregation, da es als Bindungspartner für Fibrinogen agiert und durch Ausbildung von Fibrinogenbrücken die Plättchen miteinander vernetzt (Phillips et al. 1988, Phillips et al. 1991). Wenn das ruhende Plättchen durch Agonisten stimuliert wird, erfolgt eine Konformationsänderung des GPIIb/IIIa. Dadurch verändert sich der Komplex dergestalt, dass er aus einer Art Ruhezustand in einen Aktivzustand überführt wird und somit die Affinität für lösliche Adhäsionsmoleküle, darunter vorwiegend Fibrinogen, deutlich erhöht wird (Shattil und Brass 1987). Es ist verständlich, dass es bei der dargestellten hohen Anzahl von Fibrinogen-Rezeptoren rasch zur Zusammenlagerung von Blutplättchen und im Verlauf zur massiven Ausbildung von Plättchenaggregaten über Fibrinogenbrücken kommt (Gawaz et al. 1991, Plow et al. 1992, Siess 1989). Zur

Realisierung eines normalen Ablaufs der Aggregation sind letztendlich drei Bedingungen entscheidend: Eine ausreichende Scherkraft zur Erhöhung der Kontaktwahrscheinlichkeit zwischen den Blutplättchen, Fibrinogen und Calcium, da die Bindung von Fibrinogen an GPIIb/IIIa streng calciumabhängig ist. Die initiale Bindung von Fibrinogen an den GPIIb/IIIa-Komplex ist zunächst noch reversibel, erst später erfolgt eine irreversible Stabilisierung der Bindung (Gawaz 1999). Die Signalübertragung für die einzelnen Prozesse erfolgt bidirektional, d.h. es werden Informationen aus dem Zellinneren an die Rezeptoren übertragen und umgekehrt (Nurden 1997). Eine Vielzahl von Rezeptoragonisten ist in der Lage, die Blutplättchen zu aktivieren und metabolische Veränderungen hervorzurufen. Infolge der Bindung der Agonisten an deren spezifische Rezeptoren kommt es zur Bildung von Signalfaktoren. Ein wichtiger Enzymkomplex hierbei ist die Phospholipase  $A_2$ , die mittels intrazellulärer Calciumfreisetzung aktiviert wird und die Freisetzung von Arachidonsäure aus den Phospholipiden der Plättchenmembran katalysiert. Die Arachidonsäure ist der Vorläufer einer Reihe von Lipidmediatoren (Eikosanoide) und wird durch die Zyklooxygenase-1 sowie die Thromboxansynthetase in Thromboxan  $A_2$  umgewandelt. Thromboxan  $A_2$  besitzt rezeptorvermittelte thrombogene und aggregationsfördernde Eigenschaften und ist somit ein hochpotenter Plättchenaktivator. Zusätzlich führt Thromboxan  $A_2$  zur Vasokonstriktion und Plättchenrekrutierung (Vane et al. 1998).

### Sekundäre Hämostase

Die primären Plättchenaggregate sind zunächst sehr instabil, im Verlauf der sekundären Hämostase erfolgt schließlich eine Konsolidierung des plättchenreichen Thrombus, der letztendlich von Fibrinfäden durchdrungen und umgeben ist und infolge der Gerinnselretraktion zusätzlich verfestigt wird. Die gemeinsame Endstrecke der in der klassischen Literatur beschriebenen Gerinnungskaskade ist die Bildung von Thrombin aus Prothrombin und die Spaltung von Fibrinogen zu Fibrin (Furie und Furie 1992, Furie und Furie 2008). Entsprechend des Zell-basierten Modells der Hämostase ist eine streng didaktische Trennung zwischen zellulärer und plasmatischer Gerinnung wissenschaftlich nicht mehr haltbar (Gailani und Broze 1991, Hoffman und Monroe



2001). Insbesondere den Thrombozyten kommt eine Schlüsselrolle während der sekundären Hämostase zu, denn die Membran der Plättchen ist in besonderer Weise dazu geeignet, die sekundäre Hämostase zu induzieren und zu steuern (Bouchard und Tracy 2001, Monroe et al. 2002). Zu diesem Zweck ist die Thrombozytenoberfläche aus negativ geladenen Phospholipiden zusammengesetzt, die die plasmatischen Gerinnungsfaktoren mit  $\gamma$ -Carboxy-Resten (Faktor V, VII, IX, X) über Calcium-Brücken komplexieren können (Hoffman et al. 2002). Ferner sind die Plättchen in der Lage, gebundene Gerinnungsfaktoren vor Inaktivierung zu schützen (Oliver et al. 1999) und den Prozess der plasmatischen Gerinnung streng lokalisiert und effizient ablaufen zu lassen. Die entscheidenden Schritte der Gerinnung finden somit auf der Thrombozytenoberfläche statt. Letztendlich verstärken die Blutplättchen den Gerinnungsablauf durch eine sehr ausgeprägte Thrombinbildung („thrombin burst“).

### **2.2.1.3 Pathophysiologie der Blutplättchenaktivierung**

In zahlreichen Studien konnte belegt werden, dass Blutplättchen durch die Plättchenadhäsion, -aggregation und -rekrutierung im Bereich eines rupturierten arteriosklerotischen Plaques entscheidend an der Entstehung arterieller Thromben beteiligt sind (Fuster et al. 1992, Willerson et al. 1989). Die Blutplättchen sind jedoch neben der Bildung des thrombotischen Gefäßverschlusses zudem an der Mikroembolisation und Vasokonstriktion, Plaqueprogression sowie der systemischen Entzündungsreaktion und somit an der Prognose eines akuten vaskulären Ereignisses grundlegend beteiligt. (Liuzzo et al. 1994). Ähnlich dem physiologischen Vorgang der Auslösung der primären Hämostase durch Freilegung prothrombotischen Gewebes können Thrombozyten auf rupturierten arteriosklerotischen Plaques oder in Regionen veränderten Blutflusses, beispielsweise bei hohen Scherkräften im Bereich von arteriosklerotisch bedingten Gefäßstenosen, aktiviert werden. In klinischen Studien konnte gezeigt werden, dass Patienten während des Auftretens ischämischer Angina-pectoris-Anfälle eine erhöhte Thromboxanbildung infolge einer gesteigerten Plättchenaktivierung aufweisen (Fitzgerald et al. 1986, Willerson et al. 1989). Mizuno und Mitarbeiter konnten in ihren Arbeiten feststellen, dass bei Patienten mit instabiler Angina pectoris vermehrt weiße, plättchenreiche anstelle roter und bereits organisierter

Thromben vorkommen (Mizuno et al. 1992). Bei dem akuten Koronarsyndrom werden im Versorgungsgebiet des betroffenen Gefäßes vermehrt periphere thrombozytäre Mikroaggregate nachgewiesen, die noch zusätzlich zu ischämischen Gewebsschäden führen und somit prognostisch ungünstig sind. Infolge der Freisetzung von Serotonin und Thromboxan A<sub>2</sub> induzieren Blutplättchenaggregate im Bereich des entsprechenden Gefäßabschnittes eine Vasokonstriktion und somit unter anderem transiente Koronarspasmen, die wiederum wesentlich an der Entstehung akuter Koronarsyndrome beteiligt sind (Maseri et al. 2009).

Eine Standardtherapie des akuten ischämischen Ereignisses stellt die intravenöse Thrombolyse dar. Der Erfolg der thrombolytischen Therapie bzw. das Auftreten von Reokklusionen scheinen jedoch wesentlich von einer erhöhten intravasalen Thrombozytenaktivierung abhängig zu sein. Während der Fibrinolyse kommt es zur Auflösung der Fibrinquervernetzungen und infolgedessen zur Freisetzung des zuvor thrombusgebundenen Thrombins (Topol 1998). Dieses führt wiederum zur Aktivierung von Thrombozyten in der Umgebung des lysierten Thrombus (Gurbel et al. 1998). Aktivierte Blutplättchen setzen zusätzlich den „plasminogen activator inhibitor-1“ (PAI-1) frei, der in loco die Wirkung von tPA („tissue plasminogen activator“) inhibiert und somit eine der stärksten natürlich vorkommenden antifibrinolytischen Substanzen ist.

Den wesentlichen Grundpfeiler der Behandlung eines akuten ischämischen Ereignisses stellt die interventionelle Koronartherapie dar. In Studien stellte sich jedoch heraus, dass es noch Tage nach einer stattgehabten direkten Angioplastie zu einer Aktivierung der Fibrinogenrezeptoren zirkulierender Blutplättchen kommen kann (Gawaz et al. 1996b, Scharf et al. 1992). Es konnte auch gezeigt werden, dass es nach Applikation eines koronaren Stents im Vergleich zur herkömmlichen PTCA (perkutane transluminale Koronarangioplastie) zu einer erhöhten systemischen Aktivierung von Thrombozyten kommt. Dies wiederum erhöht gemäß einer prospektiven Studie von Gawaz und Mitarbeitern das Risiko einer subakuten Stentthrombose, eine der Hauptkomplikationen nach Implantation eines Stents (Gawaz et al. 1996a).

Grundlegender betrachtet, sind Thrombozyten in Folge ihrer Fähigkeit zur Sekretion biologisch aktiver Substanzen, wie beispielsweise Zytokine und Wachstumsfaktoren, in der Lage, die Entstehung der Arteriosklerose zu fördern (Ross 1993, Vorchheimer und Becker 2006, White 1994). Kardiovaskuläre Risikofaktoren, wie beispielsweise

chronischer Nikotinabusus, Hyperlipidämie, Diabetes mellitus und arterielle Hypertonie sind assoziiert mit einer erhöhten basalen Aktivierung und Aggregabilität des zirkulierenden Plättchenpools (Tschoepe et al. 1993b). Die Veränderung der Plättchenfunktion bei Diabetikern resultiert vermutlich aus einer hierbei vorliegenden primären Freisetzung von größeren Blutplättchen mit einer erhöhten Oberflächendichte an funktionsfähigen Membranglykoproteinen sowie einer gesteigerten Thromboxan-Bildungskapazität (Tschoepe et al. 1993a). In einer Studie von Gawaz und Mitarbeitern konnte gezeigt werden, dass aktivierte Blutplättchen die chemotaktischen und adhäsiven Eigenschaften von Endothelzellen verändern. Infolge der Freisetzung von potenten zytokinähnlichen Substanzen wie etwa Interleukin 1 und CD 40 durch die Thrombozyten kommt es in Endothelzellen unter anderem zur Sekretion von „monocyte chemoattractant protein-1“ (MCP-1) sowie zur Expression von „intercellular adhesion molecule-1“ (ICAM-1). MCP-1 stellt einen wesentlichen chemotaktischen Faktor für Monozyten dar, ICAM-1 ist ein wichtiger Rezeptor für die Monozytenadhäsion. Beide kommen in arteriosklerotischen Läsionen gehäuft vor (Gawaz et al. 1998). An der thrombozytengesteuerten Bildung von MCP-1 und ICAM-1 durch Endothelzellen ist der Transkriptionsfaktor Nuklear-Faktor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) maßgeblich beteiligt. Aktivierte Blutplättchen führen zur Stimulation des NF- $\kappa$ B-Systems und induzieren die Transkription NF- $\kappa$ B-regulierter Genprodukte. NF- $\kappa$ B wurde ebenfalls in hohen Konzentrationen in arteriosklerotischen Läsionen nachgewiesen (Brand et al. 1996). Ferner können Blutplättchen durch die Sekretion von „platelet-derived growth factor“ (PDGF) die Migration und Proliferation glatter Muskelzellen in arteriosklerotischen Läsionen fördern (Ross 1993).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass Blutplättchen sowohl bei der Entstehung der Arteriosklerose und der arteriellen Thrombose eine zentrale Rolle spielen als auch entscheidend die Prognose deren Standardtherapie beeinflussen.

## **2.2.2 Die Acetylsalicylsäure als antithrombozytäre Substanz**

### **2.2.2.1 Geschichtliches**

1859 wurde erstmals Salicylsäure durch Hermann Kolbe synthetisiert. 1897 gelang die Erstsynthese kristalliner und stabiler Acetylsalicylsäure (ASS) unter der Direktion von

Arthur Eichengrün und Carl Duisburg durch Felix Hoffmann bei der Bayer-AG (Eichengrün 1949, Sneader 2000). Nach Einführung von ASS unter dem Handelsnamen „Aspirin“ entwickelte sich das Medikament zu einem weithin bekannten Hausmittel gegen Fieber, Schmerzen und Entzündungen (Schenkirsch et al. 2001, Witthauer 1899). Sir John Vane gelang schließlich 1971 der mit dem Nobelpreis gewürdigte Nachweis der Hemmung der Prostaglandinsynthese durch ASS. Willis und Smith, beide in Vanes Labor tätig, entdeckten die Mechanismen der Hemmung der Prostaglandinsynthese in den Blutplättchen und lieferten damit eine wissenschaftliche Erklärung für den schon zuvor beschriebenen antithrombozytären Effekt von ASS (Weiss und Aledort 1967).

### **2.2.2.2 Wirkmechanismus und Pharmakologie der Acetylsalicylsäure**

ASS hemmt selektiv und irreversibel die durch die Zykllooxygenase (COX) katalysierte Umsetzung von Arachidonsäure in Prostaglandin-Endoperoxide (Smith 1992). Diese sind Vorstufen von Prostaglandinen, Prostazyklin und Thromboxan A<sub>2</sub>. Die Wirkung erfolgt durch eine Acetylierung des Serinrestes 530 der COX, wodurch es zu einer sterischen Blockade des aktiven Zentrums kommt (Loll et al. 1995, Roth und Majerus 1975). Die Zykllooxygenase tritt in zwei Isoenzymformen auf, COX-1 und COX-2, wobei ASS eine ca. 170-fach potentere Hemmung der COX-1 bewirkt (Vane et al. 1998). Die COX-1 stellt die konstitutive Form des Enzyms dar (Morita et al. 1995) und katalysiert unter anderem die Synthese von Prostazyklin in den Endothelzellen sowie von Thromboxan A<sub>2</sub> in den Blutplättchen. Die COX-2, deren Bildung durch mitogene und inflammatorische Signale induziert wird (Xie et al. 1991), ist vorwiegend für die Synthese von an Schmerz- und Entzündungsprozessen beteiligten Prostaglandinen zuständig und kommt beispielsweise in Leukozyten vor (Vane et al. 1998). Weber und Mitarbeitern gelang darüber hinaus der Nachweis der COX-2 auch in Thrombozyten (Weber et al. 1999). Ferner wurde eine COX-3-Isoform beschrieben, die als genetische Variante der COX-1 und -2 identifiziert wurde (Berenbaum 2004).

Die letztendlich gewünschte Folge der Inhibition der Plättchen-Zykllooxygenase durch ASS ist die Hemmung der Bildung von Thromboxan A<sub>2</sub> und damit aller thromboxanabhängigen Verstärkungsmechanismen der Plättchenaggregation (FitzGerald 1991, Patrono 1994). Aufgrund der Kernlosigkeit und damit der fehlenden

Fähigkeit der Plättchen zur de-novo-Proteinsynthese von COX-1 hält die irreversible Plättchenfunktionshemmung durch ASS für die gesamte Lebensdauer eines Blutplättchens an. Infolge der Neusynthese von Blutplättchen wird innerhalb eines Tages nach ASS-Einnahme die COX-1-Aktivität um etwa 10 % wiederhergestellt (Burch et al. 1978). Für eine effektive Beeinflussung der Hämostase müssen jedoch etwa 90 % der Plättchenpopulation gehemmt sein (Patrono et al. 1985), so dass zur antithrombozytären Therapie mit ASS eine tägliche Einnahme erforderlich ist. Die Wirkung von ASS ist nicht nur auf die Blutplättchen beschränkt, sondern erfolgt ebenso in anderen Organen mit konstitutiver COX-1, wie beispielsweise den Endothelzellen. Die COX-1 der Endothelzellen katalysiert die Bildung von Prostazyklin, das zu einer Gefäßerweiterung führt. Die ASS-bedingte Blockade des Prostazyklinsystems ist jedoch nur kurzzeitig nachweisbar, da sich infolge der Neusynthese von COX-1 in den Endothelzellen das Gleichgewicht zugunsten des antithrombotischen Prostazyklins verschiebt (Jaffe und Weksler 1979, Patrono et al. 1998). Von weiterer Bedeutung ist, dass es nach Resorption der Acetylsalicylsäure im oberen Dünndarm zur nahezu vollständigen präsystemischen Acetylierung der Thrombozyten-Zyklooxygenase kommt (Pedersen und FitzGerald 1984) und damit eine nur geringe Enzymhemmung in den Endothelzellen auftreten kann (Cohen 1976).

#### **2.2.2.3 Acetylsalicylsäure in der therapeutischen Anwendung**

ASS ist eines der am meisten verordneten Arzneimittel weltweit (Jack 1997). Die Grundlage der klinischen Anwendung von ASS als Thrombozytenaggregationshemmstoff ist eine Hyperreaktivität der Blutplättchen, welche vorwiegend infolge der endothelialen Dysfunktion bei Arteriosklerose entsteht. Die Hauptindikation der ASS ist somit das Verhindern von thrombotischen Verschlüssen arterieller Gefäße sowohl in der Akut- als auch in der Langzeittherapie (Schrör 1999). Die infarktprotektive Wirkung von ASS wurde bis 1988 an über 15 000 Patienten in insgesamt sieben placebokontrollierten Studien untersucht, wobei zunächst jedoch keines der Studienergebnisse signifikant war. Ursachen hierfür könnten unter anderem ein unzureichendes Studiendesign, unterschiedliche Dosierungen und variable Zeitpunkte des Beginns der Therapie mit ASS sein (Schrör 2009). Erst nach

Veröffentlichung der ersten prospektiven Langzeitstudien zur Primärprävention der koronaren Herzkrankheit (KHK) wurde die Diskussion über „Aspirin®“ als Thrombozytenfunktionshemmer neu entfacht. Hierbei handelte es sich um die sogenannte „Physicians' Health Study“ sowie die Nachfolgestudie „British Doctors' Trial“. Beide Erhebungen evaluierten die Wirksamkeit von ASS bei gesunden, männlichen Ärzten hinsichtlich der Erstmanifestation eines Myokardinfarktes (**Primärprävention**). In der placebokontrollierten, randomisierten Physicians' Health Study zeigte sich nach durchschnittlich fünf Jahren eine signifikant niedrigere Inzidenz an Myokardinfarkten in der ASS-Gruppe (-47 %), wobei der Effekt auf die Studienteilnehmer über 50 Jahre und vorwiegend morgendliche Ereignisse beschränkt war. Die Gesamtmortalität in beiden Studienarmen unterschied sich jedoch nicht (Steering Committee of the Physicians' Health Study Research Group 1989). In der nicht placebokontrollierten Nachfolgestudie „British Doctors' Trial“, welche 5 139 Ärzte einschloss, waren die Anzahl an Myokardinfarkten sowie die kardiovaskuläre Mortalität nach sechs Jahren Beobachtungszeit in beiden Gruppen etwa identisch. Ferner ließ sich jedoch eine Reduktion transitorisch ischämischer Attacken (TIA) um die Hälfte sowie konträr hierzu eine nicht signifikante Häufung von Schlaganfällen in der ASS-Gruppe beobachten (Peto et al. 1988). In einer weiteren Studie zur Primärprävention mit ASS erfolgte die prospektive Evaluation der Wirksamkeit an 87 678 gesunden Frauen. Hierbei ließ sich ebenfalls kein Einfluss einer täglichen ASS-Einnahme auf das Risiko kardio- und cerebrovaskulärer Ereignisse nachweisen (Manson et al. 1991). In dem randomisierten „Thrombosis Prevention Trial“ wurden im Gegensatz zu den oben genannten Studien Patienten statt gesunder Probanden rekrutiert. Diese litten an einem erhöhten vaskulären Risiko. Nach sechs Jahren zeigte sich eine Reduktion von kardiovaskulär-ischämischen Ereignissen um 20 % in der ASS-Gruppe (Vergleich mit Warfarin, Warfarin und ASS sowie keiner Medikation), wobei dieser Effekt lediglich bei nicht-letalen Ereignissen nachweisbar und kein signifikanter Einfluss auf die Mortalität belegbar war (The Medical Research Council's General Practice Research Framework 1998). In einer schwedischen Studie zur Primärprophylaxe bei stabiler Angina pectoris ergab sich eine Verminderung des kombinierten Risikos eines Myokardinfarktes und plötzlichen Todes um 34 % (Juul-Moller et al. 1992). Eine aktuelle Metaanalyse der Antithrombotic Trialists'

Collaboration zur Primärprävention durch ASS mit insgesamt 95 000 Probanden und Patienten ergab eine Reduktion von ernsthaften vaskulären Ereignissen (Myokardinfarkt, ischämischer Insult und Tod) um 0,07% pro Jahr in der ASS-Gruppe, wobei dieser Effekt vorwiegend infolge der Reduktion der Wahrscheinlichkeit eines nicht-fatalen Myokardinfarktes zustande kam. Die Gesamtmortalität unterschied sich nicht zwischen der ASS- und der Kontrollgruppe ( $p = 0,7$ ), so dass der Nutzen von ASS zur Primärprävention eher zweifelhaft ist (Antithrombotic Trialists' (ATT) Collaboration 2009, Barnett et al. 2010).

Der therapeutische Nutzen einer täglichen Einnahme von Acetylsalicylsäure bei **instabiler Angina pectoris** konnte wesentlich in vier großen, placebokontrollierten Untersuchungen nachgewiesen werden. Im Konsens dieser Studien kann von einer Gesamtreduktion der Letalität und Infarkthäufigkeit um 40-70 % ausgegangen werden (Cairns et al. 1985, Lewis et al. 1983, The RISC Group 1990, Theroux et al. 1988). Zusätzlich ließ sich der positive Effekt von niedrig dosierter ASS (75 mg/Tag) durch die schwedische RISC-Studie konstatieren. In einer Metaanalyse von fünf randomisierten Studien mit insgesamt 2 533 Patienten, die wegen instabiler Angina pectoris täglich 75-325 mg ASS einnahmen, stellte sich eine Reduktion der Häufigkeit vaskulärer Ereignisse um durchschnittlich 40 % heraus (Antiplatelet Trialists' Collaboration 1994). Zusammenfassend belegen die Daten, dass ein hochsignifikanter, kardioprotektiver Effekt der ASS bei Patienten mit instabiler Angina pectoris vorliegt.

Weiter konnten zahlreiche Arbeiten die effiziente Wirkung von ASS bei einem **akuten Myokardinfarkt** nachweisen, wobei insbesondere die ISIS-2- und ISIS-3-Studien von großer Relevanz sind. Hierbei reduzierte die alleinige Gabe von ASS die Zahl der Todesfälle um 23 % im Vergleich zu Placebo, die Häufigkeit von nicht-letalen Reinfarkten sowie Schlaganfällen sank unter ASS um 50 %. Der dargelegte Effekt verhielt sich additiv zur Lysetherapie mit Streptokinase und blieb auch nach zehn Jahren Beobachtungszeit erhalten (Baigent et al. 1998, ISIS (International Studies of Infarct Survival) pilot study 1987, ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group 1988, ISIS-3 (Third International Study of Infarct Survival) Collaborative Group 1992).

Darüber hinaus zeigte sich in einer Vielzahl von kontrollierten Studien zur **Sekundärprävention** bei über 15 000 Patienten nach stattgehabtem Myokardinfarkt,

dass die frühzeitige Gabe von ASS die Komplikationsrate im Sinne von erneuten kardio- und cerebrovaskulären Ereignissen deutlich senkt und somit zu einer wesentlich günstigeren Prognose führt (Antiplatelet Trialists' Collaboration 1994, Breddin et al. 1980, Elwood 1981, Elwood und Sweetnam 1980, Klimt et al. 1986, The Aspirin Myocardial Infarction Study research group 1980, The Coronary Drug Project Research Group 1980, The Persantine-aspirin Reinfarction Study (PARIS) research group 1980). Eine Metaanalyse der Antiplatelet Trialists' Collaboration Group ergab eine Reduktion des Risikos für Insulte, Myokardinfarkte oder plötzlichen Tod bei Patienten mit bereits vorbestehenden kardiovaskulären Erkrankungen um 25 % (Antiplatelet Trialists' Collaboration 2002). Der dargestellte Benefit ließ sich ebenso in einer Aktualisierung dieser Metaanalyse bestätigen (Lievre und Cucherat 2010).

Der Einfluss von ASS auf das Auftreten von Komplikationen nach einer perkutanen transluminalen Koronarangioplastie (**PTCA**) wurde maßgeblich in drei prospektiven, placebokontrollierten und randomisierten Studien untersucht, wobei sich eine signifikante Reduktion der Inzidenz thrombotischer Verschlüsse und Infarkte nach Koronarangioplastie unter ASS-Einnahme um 45-77 % zeigte. Dahingegen ergaben Studien zur Prävention später Restenosen nach PTCA keine signifikante Reduktion der Restenoserate (Chesebro et al. 1989, Schwartz et al. 1988, White et al. 1987). Bezüglich der antithrombozytären Therapie nach **koronarem Stenting** zeigt die Studienlage im Wesentlichen, dass eine Reduktion der postinterventionellen Komplikationen lediglich durch einen synergistischen Einsatz der entsprechenden Substanzen (ASS, Clopidogrel, Dipyridamol, orale Antikoagulation) erreicht werden kann (Bertrand et al. 1998, Bertrand et al. 2000, Cutlip et al. 1999, Hall et al. 1996, Kastrati et al. 1997, Urban et al. 1998), wobei die Kombination von ASS und Dipyridamol wiederum nur einen geringen additiven Effekt im Vergleich zur ASS-Monotherapie erbrachte (Lembo et al. 1990).

Die Datenlage zur Thrombozytenfunktionshemmung bei **cerebrovaskulären Erkrankungen** zeigt eher diskrepante Resultate bezüglich des therapeutischen Nutzens von ASS. In Studien, die den Einsatz von ASS bei Patienten nach einer TIA (transitorische ischämische Attacke) oder einem leichten Schlaganfall („minor stroke“) evaluierten, ergab sich eine Reduktion des Risikos für einen Insult, einen Myokardinfarkt oder Tod aufgrund vaskulärer Ereignisse auf etwa ein Viertel (Antiplatelet Trialists' Collaboration 1988, Farrell et al. 1991). Analog zu den



kardiologischen Studien war hierbei eine hohe Dosis der ASS nicht mit einem gesteigerten Nutzen verbunden (The Dutch TIA Trial Study Group 1991). Im „UK-TIA-Trial“, einer Untersuchung zur Sekundärprophylaxe nach einer TIA, stellte sich mit 18 % eine nicht signifikante Risikoreduktion hinsichtlich Reinsult und Tod heraus. Auch die Studien zur Beurteilung der Sekundärprävention nach stattgehabtem ischämischen Insult zeigten eher differierende Ergebnisse. Die Metaanalyse mehrerer Arbeiten zur Prophylaxe nach nicht-kardiogen bedingtem ischämischen Schlaganfall belegen erwartungsgemäß bei arteriosklerotischer Pathogenese eine deutliche Risikoreduktion um etwa 25 % hinsichtlich des Auftretens eines Reinsultes unter ASS-Behandlung. In nachfolgenden Studien mit niedrig dosierter ASS-Therapie ließ sich dieser Effekt ebenso belegen. Im Gegensatz hierzu ließ sich in der placebokontrollierten „Swedish Cooperation Study“ kein signifikanter Unterschied bezüglich Reinsult und Tod nach stattgehabtem cerebrovaskulären Ereignis feststellen (Antiplatelet Trialists' Collaboration 1988, The SALT Collaborative Group 1991, The Swedish Cooperative Study Group 1987). In Untersuchungen bei Patienten mit erlittenen kardioembolischen Insulten zeigte sich naturgemäß eine deutliche Unterlegenheit der antithrombozytären Therapie mit ASS gegenüber einer antikoagulatorischen Behandlung (European Atrial Fibrillation Trial Study Group 1995, Petersen et al. 1989, Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Investigators 1990). In zwei großen Studien zum therapeutischen Nutzen der Acetylsalicylsäure bei einem akuten Schlaganfall ergab sich eine signifikante Senkung des Reinsult-Risikos bei einer sofortigen ASS-Behandlung, wobei sich insgesamt ein nur leichter Überlebensvorteil herausstellte (CAST (Chinese Acute Stroke Trial) Collaborative Group 1997, International Stroke Trial Collaborative Group 1997).

### **2.2.3 Die ASS-Resistenz**

#### **2.2.3.1 Begriff, Prävalenz, Ursachen und klinische Relevanz der ASS-Resistenz**

Der therapeutische Nutzen der Acetylsalicylsäure wurde, wie in Punkt 2.2.2.3 aufgeführt, durch zahlreiche Studien belegt. Dennoch kommt es bei einem erheblichen Anteil der mit ASS behandelten Patienten zu einer arteriellen Thrombose. Zusätzlich stellte sich in Plättchenfunktionsuntersuchungen eine hohe Variabilität der Plättchenantwort auf ASS ex vivo heraus. Diese wurde erstmals 1966 durch Quick

beschrieben, nachdem er Schwankungen der Blutungszeit bei Probanden beobachtete, die vorhergehend ASS eingenommen hatten (Quick 1966). Die **Definition** des Phänomens der Resistenz gegenüber ASS wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Aus klinischer Sichtweise wird sie als die Unfähigkeit, vor arteriothrombotisch-ischämischen Ereignissen zu schützen, beschrieben; wohingegen die labor- oder biochemische Definition der ASS-Resistenz das Unvermögen, einen Plättchenfunktionstest bzw. die Produktion von Thromboxan A<sub>2</sub> zu inhibieren, deklariert (Bhatt und Topol 2003, Hankey und Eikelboom 2006). Unter Berücksichtigung der zahlreichen Einflussfaktoren auf den Effekt von ASS und der damit verbundenen Fluktuation der Wirkung wird in der jüngeren Literatur der absolute Begriff der ASS-Resistenz zunehmend verlassen und stattdessen vermehrt von einem unzureichenden Ansprechen („low-/non-response“) auf die antithrombozytäre Therapie gesprochen (Geisler und Gawaz 2008, Mani und Lindhoff-Last 2009).

Die ermittelten **Prävalenzen** der ASS-Resistenz zeigen mit 0,4-83 % eine enorme Spannweite, wobei dies vorwiegend mit den unterschiedlichen Methoden, der variablen Definition sowie den verschiedenen Studienpopulationen zu begründen ist (Hankey und Eikelboom 2006). Inzwischen liegen unzählige Studien zur Prävalenz der ASS-Resistenz vor (Bennett et al. 2008, Borna et al. 2005, Buchanan und Brister 1995, Fateh-Moghadam et al. 2005, Grottemeyer 1991, Grundmann et al. 2003, Gum et al. 2001, Hobikoglu et al. 2005, Hurlen et al. 1998, Mirkhel et al. 2006, Mueller et al. 1997, Pamukcu et al. 2007, Sanioglu et al. 2009). Es existieren jedoch nur sehr wenige Arbeiten, die gesunde Probanden untersuchten (Blais et al. 2009, Madsen et al. 2008, Pappas et al. 1994, Shen et al. 2009).

Das Ansprechen auf ASS kann durch multifaktorielle Mechanismen beeinflusst werden, in der aktuellen Literatur werden diverse **Ursachen** für die ASS-Resistenz postuliert. Hierzu zählen unter anderem die Non-Compliance der Patienten; demografische Faktoren wie etwa Alter, Geschlecht, Diabetes mellitus und stattgehabte akute Koronarsyndrome; genetische Polymorphismen und Zell-Zell- sowie Arzneimittel-Interaktionen. Die wesentlichen Mechanismen sind in die Tabelle 2.1 zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 2.1: Mögliche Mechanismen der ASS-Resistenz

Ursache	Nähere Erläuterung	Entsprechende Studien
<b>Fehlende Compliance</b>	Einige Arbeiten postulieren die Non-Compliance als eine der Hauptursachen für die ASS-Resistenz.	Cotter et al. 2004, Cuisset et al. 2009, Dawson et al. 2010, Schwartz et al. 2005
<b>Verminderte Bioverfügbarkeit</b>	Individuelle Unterschiede in der Resorption und Pharmakokinetik könnten zu einer verminderten Wirksamkeit von ASS führen. Die Daten hierzu sind jedoch kontrovers. Ferner wird eine verminderte Wirkung von magensaft-resistenten Zubereitungen diskutiert.	Anand et al. 1999, Benedek et al. 1995, Cox et al. 2006, Gonzalez-Conejero et al. 2005
<b>Inadäquate Dosis</b>	Einige Autoren argumentieren, dass eine ASS-Resistenz durch eine stufenweise Erhöhung der ASS-Dosis revertiert werden kann. Bei verschiedenen Erkrankungen seien höhere Dosen von bis zu 325mg pro Tag nötig.	Brambilla et al. 2010, Patrono et al. 2004, Wong et al. 2006
<b>Interferenz mit anderen Pharmaka</b>	Durch sterische Wechselwirkung an der COX-1-Bindungsstelle bei gleichzeitiger Einnahme von ASS und nichtsteroidalen Antirheumatika ( <b>NSAR</b> ) wie Ibuprofen könnte es zu einer ineffektiven Wirksamkeit von ASS kommen.	Catella-Lawson et al. 2001, Curtis et al. 2003, Hennekens et al. 2010, MacDonald und Wei 2003
<b>Alternative Wege der Thrombozyten-aktivierung und erhöhte Plättchen-sensibilität auf andere Agonisten</b>	Potentielle Stoffwechselwege, die zu einer von Thromboxan A <sub>2</sub> -unabhängigen Plättchenaktivierung führen, sind: - Stimulation des $\alpha$ -Adrenorezeptors der Plättchen durch eine erhöhte Plasmakonzentration von <b>Kathecholaminen</b> in Stresssituationen oder bei chronischem Nikotinabusus - Stimulation der P2Y <sub>1</sub> /P2Y <sub>12</sub> -Rezeptoren durch <b>ADP</b> - Stimulation der $\alpha$ 1 $\beta$ 2-Integrine und des GPVI durch <b>Kollagen</b> - Stimulation der PAR1/PAR4-Rezeptoren durch <b>Thrombin</b> - <b>Scherstress</b> Eine erhöhte Sensibilität gegenüber Kollagen oder ADP, beispielsweise bei einer vorliegenden KHK, führt zu einer von Thromboxan-A <sub>2</sub> unabhängigen Plättchenaktivierung durch die oben genannten Stoffwechselwege.	Beres et al. 2008, Christiaens et al. 2002, Hurlen et al. 2000, Pamukcu et al. 2005a  Kawasaki et al. 2000, Macchi et al. 2002
<b>Alternative Stoffwechselwege der TXA<sub>2</sub>-Bildung</b>	Das Vorhandensein der <b>COX-2 in den Blutplättchen</b> ermöglicht eine von der COX-1 unabhängige Produktion von Thromboxan A <sub>2</sub> .	Weber et al. 1999, Weber et al. 2002
<b>Demografische Daten</b>	Zahlreiche Studien zeigen (unabhängig von der jeweils angewandten Methodik), dass die Resistenz gegenüber ASS mit verschiedenen Patientenmerkmalen assoziiert ist: - <b>Hohes Alter</b> - <b>Weibliches Geschlecht</b> - <b>Chronischer Nikotinabusus</b> - <b>Diabetes mellitus</b> - <b>Hypercholesterinämie</b> - <b>Adipositas</b>	Angiolillo 2009, Bordeaux et al. 2010, Cohen et al. 2008, Ertugrul et al. 2010, Friend et al. 2003, Gum et al. 2001, Hung et al. 1995, Singla et al. 2009, Tamminen et al. 2003, Watala et al. 2005, Winocour 1994
<b>Genetische Ursachen</b>	Zu den etwaigen genetischen Ursachen der ASS-Resistenz zählen unter anderem Polymorphismen in der COX-1 oder im GPIIb/IIIa-Rezeptor.	Cipollone et al. 2004, Feher et al. 2009, Halushka et al. 2003, Jefferson et al. 2005, Macchi et al. 2003, Maree et al. 2005, Pettinella et al. 2009, Undas et al. 2001

<b>Akutes Koronarsyndrom, Bypass-chirurgische Eingriffe, PTCA/ Koronares Stenting</b>	Verschiedene Studien zeigen eine deutlich erhöhte Prävalenz der ASS-Resistenz in den dargelegten Situationen. Die Gründe hierfür sind noch nicht ausreichend geklärt, könnten jedoch laut Autoren unter anderem in einem <b>erhöhten Plättchenumsatz infolge dieser Eingriffe</b> liegen.	Bednar et al. 2009, Borna et al. 2005, Hobikoglu et al. 2005, Serebruany et al. 2001, Zimmermann et al. 2003
<b>Zell-Zell-Interaktionen</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Erythrozyten:</b> Verstärkung der Aggregation durch Intensivierung der Thromboxan-A<sub>2</sub>-Synthese, gesteigerte Phospholipase-Aktivität und Induktion der Sekretion</li> <li>- <b>Monozyten/Makrophagen:</b> Expression von COX-2</li> <li>- <b>Leukozyten</b></li> </ul>	Cecchi et al. 2009, Patrignani 2003, Valles et al. 1998
<b>Endotheliale Dysfunktion</b>	Infolge des durch die oben genannten Faktoren (Diabetes mell., Hypercholesterinämie, usw.) zerstörten Endothels ist die Produktion von Stickstoffmonoxid (NO) stark beeinträchtigt. NO ist jedoch ein bedeutender Inhibitor der Plättchenaktivität (Loscalzo 2002).	Loscalzo 2001, Poston et al. 2006
<b>Erhöhter Oxidationsstress und Bildung von sogenannten Isoprostanen</b>	Die nicht-enzymatische, durch freie Radikale katalysierte Lipidperoxidation führt zu einer Entstehung von sogenannten <b>Isoprostanen</b> . Diese induzieren eine Vasokonstriktion, beeinflussen die Plättchenfunktion und zeigen sich bspw. bei chronischem Nikotinkonsum, Diabetes mellitus und Hypercholesterinämie erhöht (Morrow et al. 1995).	Cipollone et al. 2000, Patrignani 2003, Patrono et al. 2005

In einer aktuellen Studie von Anger und Mitarbeitern wird darüber hinaus postuliert, dass das verminderte Ansprechen der Blutplättchen auf ASS bei ASS-resistenten Patienten durch einen „Plasma-Faktor“ vermittelt wird. Sie fanden heraus, dass die Plättchen gesunder Probanden („ASS-Responder“) nach einer Plasma-Transfusion von ASS-resistenten Spendern schließlich ebenfalls ASS-resistent waren. Umgekehrt konnte das Plasma von ASS-Respondern keine ASS-Resistenz bei den Probanden „auslösen“ (Anger et al. 2010). Mateos-Caceres und Mitarbeiter stellten darüber hinaus fest, dass die Blutplättchen ASS-resistenter Patienten im Vergleich zu denen ASS-sensibler Studienteilnehmer ein anderes Expressionsmuster von Oberflächenproteinen, darunter beispielsweise Proteine des Zytoskeletts, aufwiesen (Mateos-Caceres et al. 2010).

Zur Prüfung der **klinischen Relevanz** des Phänomens wurde in verschiedenen Studien die laborchemische Resistenz gegenüber ASS mit dem nachfolgenden Auftreten gefäßbedingter Ereignisse korreliert. In einer der ersten Studien diesbezüglich untersuchten Grottemeyer und Mitarbeiter Patienten nach stattgehabten Schlaganfall. Nach zwei Jahren zeigte sich, dass 40 % der ASS-resistenten Patienten ein relevantes vaskuläres Ereignis durchgemacht hatten, währenddessen dies bei nur 4,4 % der ASS-Responder der Fall war (Grottemeyer et al. 1993). Eikelboom und Mitarbeitern gelang es, in einer Subgruppenanalyse der sogenannten HOPE-Studie (Heart Outcomes

Prevention Evaluation) (Yusuf et al. 2000), einen signifikanten Zusammenhang zwischen erhöhten 11-Dehydro-Thromboxan-B<sub>2</sub>-Spiegeln im Urin und dem Auftreten von Myokardinfarkten und kardiovaskulär bedingtem Tod nachzuweisen (Eikelboom et al. 2002). In einer weiteren Studie zeigte sich nach einer mittleren Nachbeobachtungszeit von 679 Tagen eine signifikant erhöhte Inzidenz der kombinierten Endpunkte (Tod, nicht-letaler Myokardinfarkt, cerebrale ischämische Ereignisse) bei ASS-resistenten Patienten (24 % vs. 10 %) (Gum et al. 2003). Auch in nachfolgenden Studien zur klinischen Relevanz ließ sich diese wiederholt belegen (Addad et al. 2010, Chen et al. 2007, Chu et al. 2010, Cotter et al. 2004, Cuisset et al. 2006, Frelinger et al. 2009, Frossard et al. 2004, Fuchs et al. 2006, Grundmann et al. 2003, Mueller et al. 1997, Pamukcu et al. 2006, Pamukcu et al. 2007, Stejskal et al. 2006, Valles et al. 2007). Zusätzliche Studien geben darüber hinaus Hinweise auf die Korrelation einer vorliegenden Resistenz gegenüber ASS und einem schlechteren Outcome nach PTCA und Stentimplantation, wobei vor allem die akute Stentthrombose als eine der gefürchtetsten Komplikation zu nennen ist (Chen et al. 2004, Lev et al. 2006, Pamukcu et al. 2005b, Wenaweser und Hess 2005). In einer Metaanalyse, die 20 Studien überprüfte und insgesamt 2 930 Patienten einschloss, ereigneten sich bei 39 % der ASS-resistenten Patienten und bei 16 % der ASS-sensitiven Studienteilnehmer kardiovaskuläre Ereignisse (Odds ratio 3,85;  $p < 0,001$ ) (Krasopoulos et al. 2008). Ebenso ließ sich in nachfolgenden Metaanalysen ein signifikant erhöhtes Risiko für ASS-resistente Patienten belegen (Crescente et al. 2008, Reny et al. 2008, Snoep et al. 2007).

Bei den genannten Studien zur klinischen Relevanz ist insgesamt zu berücksichtigen, dass es sich überwiegend um retrospektive Studien handelt, die aufgrund der unterschiedlichen Messmethoden, der teilweise unpräzisen Definitionen sowie der uneinheitlichen ASS-Dosen sehr heterogen sind. Es wurden lediglich kombinierte Endpunkte ohne Beachtung deren zusätzlicher Einflussfaktoren gewählt. Dennoch illustrieren die Arbeiten einen deutlichen Zusammenhang zwischen der ASS-Resistenz und relevanten vaskulären Ereignissen und Komplikationen (Sweeny et al. 2009, Zimmermann und Hohlfeld 2008). Aktuell existieren zwei große Studien zur prospektiven Untersuchung der klinischen Relevanz der ASS-Resistenz, die ASCET- und die CHARISMA-Studie (Bhatt et al. 2006, Bhatt und Topol 2004, Pettersen et al.

2004), deren Abschluss bzw. umfassende Auswertung und Interpretation noch abzuwarten bleiben (Bhatt et al. 2007, Boden et al. 2010).

### **2.2.3.2 ASS-Resistenz-Diagnostik**

Derzeit ist eine Vielzahl von Messmethoden zur Erfassung der ASS-Resistenz verfügbar. Das am besten evaluierte und aus diesem Grund nach wie vor als Goldstandard deklarierte Verfahren ist die optische Aggregometrie (Born 1962). Hierbei wird die Veränderung der Lichttransmission durch eine Probe nach Zugabe eines speziellen Agonisten und einer daraus resultierenden Aggregation der Plättchen erfasst, wobei sich die Arachidonsäure als optimaler und spezifischster Agonist zur Erfassung der ASS-Resistenz herausstellte (Burke et al. 2003). Das Verfahren benötigt Zentrifugationsschritte zur Herstellung eines plättchenreichen Plasmas und arbeitet mit Citratblut. Eine weitere Möglichkeit der ASS-Resistenz-Diagnostik ist die sogenannte Vollblutaggregometrie, deren Prinzip auf einer Impedanz-Messung zwischen zwei in eine Vollblutprobe eingebrachten Elektroden beruht. Nach Zusatz von Arachidonsäure kommt es infolge der Aktivierung der Blutplättchen zu deren Akkumulation an den Elektroden und dadurch zu einer Zunahme der Impedanz (Toth et al. 2006). Eine in der klinischen Routine nur wenig zur Anwendung kommende Methode ist die Messung von Thromboxan B<sub>2</sub> als stabiler Metabolit des Thromboxan A<sub>2</sub> im Plasma mittels ELISA-Testsystemen. Alternativ kann ebenso der 11-Dehydro-Thromboxan-B<sub>2</sub>-Spiegel im Urin bestimmt werden. Die genannten Parameter sind ein Indikator der COX-1-Funktion und zeigen sich bei deren Hemmung durch ASS reduziert (Schrör und Seidel 1988).

Mit dem Ziel der Reduktion des labordiagnostischen Aufwandes wurden im Verlauf zunehmend sogenannte „Point-of-Care-Tests“ entwickelt. Eine in der klinischen Anwendung bereits etablierte Messmethode ist der „Platelet Function Analyzer PFA®-100“. Dieser misst die primäre Hämostase in vitro. Eine detaillierte Beschreibung der Funktionsweise findet sich in Punkt 4.3.6. Ein von der Born-Methode abgeleitetes Verfahren wird beim „Rapid Platelet Function Analyzer“ (Ultegra®-RPFA) angewandt. Hierbei binden durch Arachidonsäure aktivierte Thrombozyten an Fibrinogen-beschichtete Partikel, wobei die Messergebnisse in sogenannten Aspirinreaktionseinheiten (ARU) angegeben werden.

In Tabelle 2.2 sind die wesentlichen Messverfahren sowie deren Vor- und Nachteile zusammenfassend dargestellt. In der klinischen Routine hat sich bisher keine der oben genannten Methoden als Standardmethode etabliert. Insgesamt zeigt sich in der aktuellen Literatur eine schlechte bzw. gänzlich fehlende Korrelation zwischen den Resultaten der einzelnen Labormethoden (Harrison et al. 2008, Lordkipanidze et al. 2007). Weiter ergab eine Untersuchung der Konsistenz der Messresultate nach einem Jahr bei Anwendung der optischen Aggregometrie eine lediglich dem Zufall entsprechende Reproduzierbarkeit sowie eine moderate Reproduzierbarkeit bei Verwendung des PFA-100® und des Ultegra®-RPFA (Harrison et al. 2008). In Hinblick auf die hohe klinische Relevanz der Thematik sollten zukünftige Bestrebungen dahin gehen, ein schnelles, standardisiertes und validiertes Verfahren zur Detektion der ASS-Resistenz in der klinischen Anwendung zu etablieren bzw. die Validität der bisherigen Methoden zu überprüfen und eine Standardisierung, die Definition von einheitlichen Grenzwerten inbegriffen, zu erreichen (Cattaneo 2007, Geisler und Gawaz 2008).

Tabelle 2.2: Übersicht der Labormethoden zur ASS-Resistenz-Diagnostik, nach Nowak 2007 sowie Zimmermann und Hohlfeld 2008.

Methode	Messprinzip	Messgröße	Probe	Vorteile	Nachteile
<b>Optische Aggregometrie</b>	Analyse der Lichttransmission nach Zugabe eines Plättchen-agonisten	Veränderung der Lichttransmission der Probe	plättchenreiches, citratantikoag. Plasma	- weit verbreitet - gut etabliert in der Literatur	- großer labortechnischer Aufwand - geringe Reproduzierbarkeit - viele Einflussfaktoren (u.a. der Hämatokrit) - unphysiologisch durch Verwendung von plättchenreichem, citratantikoag. Plasma, - begrenzte Sensitivität
<b>Impedanz-Aggregometrie</b>	Messung der Agonisten-induzierten Plättchenaggregation	Veränderung der Impedanz zwischen zwei Elektroden	Vollblut	- nur geringe Aufbereitung der Probe notwendig	- nicht standardisiert - geringe Reproduzierbarkeit - viele Einflussfaktoren - begrenzte Sensitivität
<b>PFA-100®</b> (Plättchen-funktions-analyzer)	Ermittlung der Agonisten-induzierten Aggregation in einer Kapillare	Verschlusszeit	citra-antikoag. Vollblut	- halbautomatisch - physiologische Flussbedingungen - bereits in zahlreichen Studien angew.	- abhängig von Plättchenzahl, Hämatokrit, vWF, Messtemperatur etc. - begrenzte Sensitivität - hohe Kosten
<b>Ultegra® - RPFA-ASA</b> (Rapid Platelet Function Analyzer)	Messung der Arachidon-säure-induzierten Plättchenaggr. an Fibrinogen-beschichteten Partikel	Aspirin-reaktions-einheiten (ARU) basierend auf Änderung der Lichttransmission	Vollblut	- einfach und schnell - halbautomatisch	- hohe Kosten - begrenzte Sensitivität und Spezifität
<b>Serum-TXB<sub>2</sub></b>	Ermittlung des TXB <sub>2</sub> -Spiegels als Metabolit des TXA <sub>2</sub>	TXB <sub>2</sub> -Spiegel	Serum	- direkt abhängig von der COX-1	- hohe Kosten - hoher Aufwand - nicht Blutplättchen-spezifisch
<b>11-Dehydro-Thromboxan-B<sub>2</sub></b>	Analyse des 11-Dehydro-Thromboxan-B <sub>2</sub> -Spiegels, der direkt proportional zum Serum-TXB <sub>2</sub> ist	11-Dehydro-Thromboxan-B <sub>2</sub> -Spiegel	Urin	- direkt abhängig von der COX-1 - korreliert mit klinischen Ereignissen	- nicht Blutplättchen-spezifisch - abhängig von der Nierenfunktion - hohe Kosten



## 3 Ziele der Arbeit

Herz- und Kreislauferkrankungen, hierunter vorwiegend die ischämische Herzkrankheit als Folge eines akuten oder rezidivierenden Myokardinfarktes, stellen die häufigste Todesursache in Deutschland dar. Allein im Jahr 2007 waren 43,4 % der Todesfälle in Deutschland den Herz- und Kreislauferkrankungen zuzuordnen (Statistisches Bundesamt 2008). Aufgrund der zentralen pathophysiologischen Rolle der Blutplättchen hierbei stellt die Thrombozytenaggregationshemmung mit Acetylsalicylsäure den wesentlichen Grundpfeiler der Therapie dieser Erkrankungen dar. In den letzten Jahren ergaben sich jedoch zunehmend Hinweise auf eine verminderte oder gar fehlende antithrombozytäre Wirkung der ASS bei einem nicht unerheblichen Anteil der Patienten. Dieses Phänomen wird in der wissenschaftlichen Literatur als ASS-Resistenz bezeichnet und scheint multifaktorieller Genese zu sein. Trotz des hohen wissenschaftlichen Interesses an der Thematik sind die genauen Mechanismen der ASS-Resistenz nach wie vor nicht ausreichend geklärt, eine standardisierte Methodik zur sicheren, einfachen und validierten Erfassung ist bisher ebenso nicht gefunden worden. In zahlreichen Studien zeigte sich jedoch ein deutlicher Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer Resistenz gegenüber ASS und relevanten vaskulären Ereignissen. Somit könnte die weitere Erforschung dieser Thematik von hoher klinischer Bedeutung sein.

Vor diesem Hintergrund ist das generelle Anliegen der vorliegenden Studie die umfassende Untersuchung der Plättchenfunktion bei gesunden Probanden im Vergleich zu einer klinisch relevanten Patientengruppe. Hierbei wird ein besonderer Schwerpunkt auf die Ermittlung des ASS-Resistenz-Profiles in beiden Studienkollektiven unter Einführung einer neuen Methode zur ASS-Resistenz-Diagnostik, dem PADA-RASS, gelegt.

Folgende wesentliche Fragestellungen sollen evaluiert werden:

- I. Wie hoch ist die Prävalenz der ASS-Resistenz bei stationären, kardiovaskulären Patienten der Klinik für Innere Medizin I des Universitätsklinikums Jena sowie bei gesunden Probanden unter Anwendung des PADA-RASS?
- II. Besteht ein relevanter Unterschied bezüglich des ermittelten Profils und der Häufigkeit der ASS-Resistenz zwischen den beiden Studienkollektiven?
- III. Sind spezielle Vor- bzw. Nebenerkrankungen sowie kardiovaskuläre Risikofaktoren der Patienten mit signifikanten Unterschieden des ASS-Resistenz-Profiles im Vergleich zu den Probanden verbunden?
- IV. Sind die Messergebnisse des PADA-RASS, als eine neue Methodik zur Erfassung der ASS-Resistenz, reproduzierbar?
- V. Zeigen sich Assoziationen zwischen den Messergebnissen des PADA-RASS und dem Zeitpunkt der Untersuchung, dem Alter und Geschlecht sowie den Blutbildparametern in den vorliegenden Studienpopulationen?
- VI. Korrelieren die Messresultate des PADA-RASS mit denen des PFA-100®?
- VII. Ist eine Modifikation des PFA-100® entsprechend des Testprinzips des PADA-RASS möglich und führt dies zu einer verbesserten Übereinstimmung der Messergebnisse?

Darüber hinaus erfolgt im Rahmen der angestrebten umfassenden Plättchenfunktionsdiagnostik die vergleichende Ermittlung und Auswertung der Blutplättchenzahlen, der Plättchenadhäsivität sowie der plättchengebundenen HIT-II-Antikörper (HIT-II: Heparin-induzierte Thrombozytopenie Typ-II) in beiden Kollektiven.

## 4 Methodik

### 4.1 Charakteristika der Studienpopulationen

In der vorliegenden Studie erfolgten eigenständige Plättchenfunktionsuntersuchungen bei insgesamt 214 Probanden und Patienten. Aufgrund messtechnischer Probleme, deren Inhalt detailliert in Abschnitt 5.4.4.5 beschrieben wird, mussten siebzehn Probanden sowie zehn Patienten von den Auswertungen ausgeschlossen werden. Die folgenden Ausführungen beziehen sich daher auf die verbleibenden Probanden und Patienten.

#### 4.1.1 Gesunde Probanden

Es nahmen insgesamt 100 gesunde, freiwillige Probanden, die unabhängig von Geschlecht und Alter rekrutiert wurden, an den Plättchenfunktionsuntersuchungen teil. Als Ausschlusskriterien galt hierbei das Vorliegen von kardiovaskulären, chronisch nephrologischen und ähnlich schwerwiegenden Erkrankungen. Ein weiteres Ausschlusskriterium war die Behandlung mit GPIIb/IIIa-Antagonisten, da diese zur Verfälschung der Ergebnisse hätte führen können. Jeder Proband wurde über den Zweck der Studie aufgeklärt und gab seine schriftliche Zustimmung. Ein positives Votum der Ethikkommission der Friedrich-Schiller-Universität liegt vor (Nummer 2486-02/09). Die Untersuchung der Probanden erfolgte, mit dem Ziel der Erhöhung der statistischen Aussagekraft durch eine Vergrößerung der Stichprobe, gemeinsam mit einer weiteren Doktorandin der AG „Pharmakologische Hämostaseologie“.

Das mittlere Alter der Probanden lag bei  $33,4 \pm 13,6$  Jahren (Spannweite 18,6 – 69,5 Jahre), der Altersmedian betrug 27,4 Jahre. Das Durchschnittsalter der 55 weiblichen Probandinnen lag bei 32,0 Jahren, das der 45 männlichen Probanden bei 35,0 Jahren. Abbildung 4.1 stellt die Altersverteilung der Probanden dar.

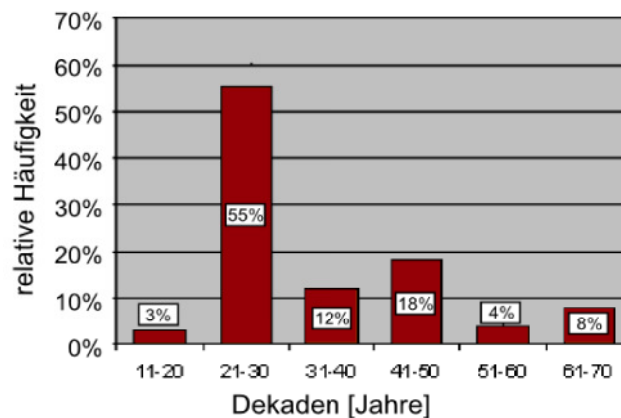


Abbildung 4.1: Altersverteilung der Probanden

In Tabelle 4.1 werden die Häufigkeiten etwaiger Vorerkrankungen und Besonderheiten, welche mit Hilfe eines Fragebogens erfasst wurden, aufgeführt. Hierbei beinhaltet der Unterpunkt „Besonderheiten zum Untersuchungszeitpunkt“ Infektionen, Stress sowie Auslandsreisen unmittelbar vor den Messungen. Zum Unterpunkt Dauermedikation zählten hormonelle Kontrazeptiva (N = 31), Levothyroxin (N = 5), Bisoprolol (N = 2), gelegentlich ASS (N = 2) sowie Clopidogrel, Amlodipin und Simvastatin (jeweils N = 1).

Tabelle 4.1: Vorerkrankungen und Besonderheiten der Probanden

	Absolute Häufigkeit	relative Häufigkeit
Kardiovaskuläre Erkrankungen	0	0 %
Chronische Nierenerkrankung	0	0 %
Arterielle Hypertonie	6	6 %
Diabetes mellitus	1	1 %
Familiäre Gerinnungsstörung	6	6 %
Allergien	43	43 %
Heparinmedikation in der Vergangenheit	20	20 %
Dauermedikation	39	39 %
Hormonelle Kontrazeptiva	31	56 % (bezogen auf die 55 weiblichen Probandinnen)
Chronischer Nikotinabusus	21	21 %
Besonderheiten zum Messzeitpunkt	4	4 %

Bei zwei Subpopulationen der Probanden, deren demografische Daten in Tabelle 4.2 aufgeführt sind, erfolgten zusätzliche Untersuchungen in Form von direkten

Vergleichsmessungen mit einem weiteren Plättchenfunktionstest sowie Parallelmessungen. Über den Zweck dieser Untersuchungen wurden die entsprechenden Personen ebenfalls aufgeklärt und gaben ihre schriftliche Zustimmung.

Tabelle 4.2: Demografische Daten der Subpopulationen der Probanden

	Subpopulationen der Probanden	
	Vergleichsmessung mit dem PFA-100®	Parallelmessungen PADA-RASS
N	25	10
Weiblich	68,0 %	60,0 %
Männlich	32,0 %	40,0 %
Mittleres Alter [Jahre]	27,16 ± 10,66	25,07 ± 6,31
Altersmedian [Jahre]	23,54	22,06
Maximalalter [Jahre]	63,6	34,4
Minimalalter [Jahre]	20,8	18,6

#### 4.1.2 Patienten

Die Studie umfasste 87 kardiovaskuläre Patienten der Klinik für Innere Medizin I (KIM I) des Universitätsklinikums Jena. Hierbei wurden alle Patienten eingeschlossen, welche sich aufgrund einer akuten kardiovaskulären Erkrankung im Zeitraum von August bis Anfang September 2007 auf den kardiologischen Stationen der KIM I befanden. Die Rekrutierung erfolgte unabhängig von Geschlecht, Alter und Begleiterkrankungen sowie einer vorbestehenden ASS-Medikation. Als Ausschlusskriterium galt die aktuelle Behandlung mit GPIIb/IIIa-Antagonisten. Jeder Patient wurde über die Methoden und Fragestellung der Untersuchung aufgeklärt und gab seine Zustimmung. Ein positives Votum wurde seitens der Ethikkommission der Friedrich-Schiller-Universität Jena erteilt (Nummer 2031-06/07). Alle medizinischen Daten und Informationen wurden aus den zur Verfügung stehenden Krankenakten der entsprechenden Patienten erfasst und analysiert.

Von den 87 Patienten waren 26 weiblich (29,9 %) und 61 männlich (70,1 %). Das mittlere Alter lag insgesamt bei 69,2 ± 10,7 Jahren (Spannweite 38,9 – 91,1 Jahre), das Durchschnittsalter der männlichen Patienten betrug 67,5 Jahre, das der weiblichen 72,9 Jahre. Der Altersmedian lag bei 70,0 Jahren. In Abbildung 4.2 wird die Altersverteilung der Patienten veranschaulicht.

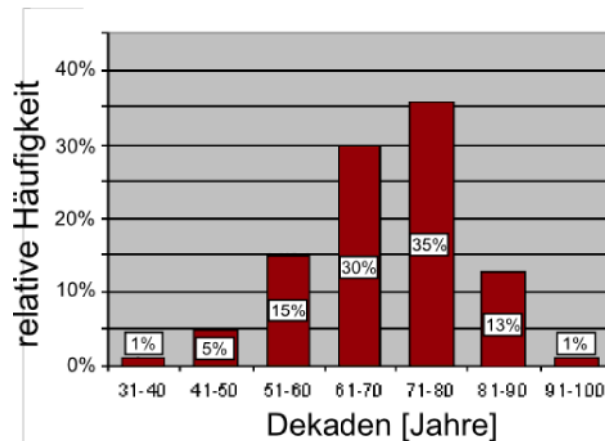


Abbildung 4.2: Altersverteilung der Patienten

Die durchschnittliche Liegedauer der Patienten auf Station betrug 6,7 Tage (Spannweite 1-30 Tage, Median 5 Tage). In Tabelle 4.3 sind die Häufigkeiten der vorliegenden Hauptdiagnosen, der kardialen Risikofaktoren und ausgewählter Medikationen in der Patientenpopulation zusammenfassend dargestellt. Hierbei wurden unter der Ausführung „generell Thrombosen/Embolien“ folgende Diagnosen zusammengefasst: Myokardinfarkt, ischämischer Hirninfarkt, Beinvenenthrombosen, Stentthrombose und Lungenembolie. Unter dem Punkt Herzklappenvitien wurden Herzklappenstenosen und -insuffizienzen subsummiert.

Tabelle 4.3: Hauptdiagnosen, kardiale Risikofaktoren und Medikation der Patienten (N = 87)

Merkmal		Absolute Häufigkeit	Relative Häufigkeit
Koronare Herzkrankheit (KHK)		63	72,4 %
Akutes Koronarsyndrom		31	35,6 %
	Aktuell STEMI	6	6,9 %
	Aktuell NSTEMI	15	17,2 %
	Instabile Angina pectoris	15	17,2 %
Erfolgte Intervention im Herzkatheter		35	40,2 %
Stentstenose		8	9,2 %
Stentthrombose		3	3,4 %
Herzinsuffizienz		22	25,3 %
Herzrhythmusstörungen		30	34,5 %
Herzklappenvitien		21	24,1 %
Aktuell kardiale Dekompensation		13	14,9 %
Maligne Erkrankung		8	9,2 %
Chronische Niereninsuffizienz nach K/DOQI		24	27,6 %
Infektion zum Messzeitpunkt		17	19,5 %
pAVK		13	14,9 %
Zustand nach Bypass-OP		10	11,5 %
Zustand nach Myokardinfarkt		27	31,0 %
Generell Thrombosen/Embolien		50	57,5 %
Monotherapie mit ASS		32	36,8 %
Duale Therapie mit ASS und Clopidogrel		38	43,7 %
Enoxaparin-Medikation		29	33,3 %
Phenprocoumon-Medikation		15	17,2 %
Arterielle Hypertonie		77	88,5 %
Diabetes mellitus		40	46,0 %
Hyperlipidämie		45	51,7 %
Aktuell chronischer Nikotinabusus		16	18,4 %
Adipositas		30	34,5 %

## 4.2 Untersuchungsmaterialien

### 4.2.1 Geräte

Bezeichnung	Hersteller	Funktion/Bemerkung
KX-21	Sysmex Europe GmbH, Hamburg	19-Parameter vollautomatischer Hämatologie-Analysator
DADE® PFA-100®	Dade International Inc., Miami, USA	Analysegerät zur Erfassung einer primären Hämostasestörung
kalibrierter Minischüttler	IKA® Works, modifiziert JenAffin GmbH, Jena	
Vortex mixer ZX3	VELP® Scientifica Europe, Usmate (Milano)	
Finnpipette®	Labsystems, Frankfurt/Main	0,5-10 µl und 40-200 µl
Transferpette® S	Brand GmbH und Co KG, Wertheim	Fix 200 µl und Fix 10 µl
Gilson Pipetman	Abimed, Langenfeld	100-1000 µl

### 4.2.2 Testkits und gebrauchsfertige Komponenten

Bezeichnung	Hersteller	Funktion/Bemerkung
HaemoSys® PADA Platelet Adhesion Assay	JenAffin GmbH, Jena	Enthält Kontroll- und Probenröhrchen, kalibrierte Partikelsuspension mit stabilisierendem Zusatz, Kontrolllösung (0,9 % NaCl) mit stabilisierendem Zusatz
HaemoSys® PADA-HIT	JenAffin GmbH, Jena	
Stromatolyser®-WH, SWH – 200 A	Sysmex Deutschland GmbH, Norderstedt	WBC- und HGB-Lysereagenz
Cellclean™ CL-50	Sysmex Europe GmbH, Hamburg	Reinigungsmittel
Cell-Pack PK-301	Sysmex Europe GmbH, Hamburg	Diluent
Eightcheck – 3WP-H	Sysmex Corporation Kobe, Japan	Hematology Control
Dade® PFA Messzelle Kollagen/ ADP	Dade Behring Marburg GmbH	2 µg Kollagen Typ I, 50 µg Adenosin-5'- Diphosphat
Dade® PFA Messzelle Kollagen/ Epinephrin	Dade Behring Marburg GmbH	2 µg Kollagen Typ I, 10 µg Epinephrin- Bitartrat
Dade® PFA Priming Cartridges	Dade Behring Marburg GmbH	
Dade® PFA-100® Cleaning Pads	Dade Behring Marburg GmbH	
Dade® PFA Start Lösung	Dade Behring Marburg GmbH	isotonische Kochsalzlösung
Dade® PFA-100® O-Ring Service Tool	Dade Behring Marburg GmbH	
Dade® PFA Vacuum Cups	Dade Behring Marburg GmbH	
Dade® PFA-100® Spülc cartridge	Dade Behring Marburg GmbH	



### 4.2.3 Verbrauchsmaterial

Bezeichnung	Hersteller	Funktion/Bemerkung
S-Monovette® LH, 2,6-7,5 ml	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Blutentnahmesystem, 16 I.E. Heparin/ ml Blut
S-Monovette® 5 ml bzw. 2,6 ml 9NC	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Blutentnahmesystem, Trinatriumcitrat-Lösung 0,106mol/l, 0,5 ml bzw. 0,3 ml Citrat-Lösung
Multi-Adapter lang	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	
S-Monovette® -Kanüle	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	20 G x 1 ½ Kanüle
Micro-Flo	DKS Loversan Industria Biomedica S.p.A., Gemonio	Butterflykanüle, 21GA 0,8x20mm
Plastibrand®	Brand GmbH und Co, KG, Wertheim	Pipettenspitzen Nano Cap und 300 µl
Ultratip-Pipettenspitzen	Greiner Bio-One, Frickenhausen	Pipettenspitzen
Parafilm® „M“	Brand GmbH und Co KG, Wertheim	Laboratory Film
Reagenzröhrchen	Nerbe Plus, Winsen/Luhe	

### 4.2.4 Chemikalien und Reagenzien

Bezeichnung	Hersteller	Funktion/Bemerkung
Aspisol®	Bayer Vital Leverkusen	0,5 g ASS mit 5 ml Aqua bidest, zusätzlich wurden 0,5 µl Aggregationspuffer hinzugegeben
Aspirin® i.v.	Bayer Schering Pharma	

## 4.3 Methoden

### 4.3.1 Darstellung der Studie

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine prospektive, klinische Diagnostikstudie im Zeitraum von Oktober 2006 bis Oktober 2008. Bei allen Probanden und Patienten erfolgte eine Blutentnahme zur umfassenden Plättchenfunktionsdiagnostik mit Hilfe des PADA sowie zweier Modifizierungen des PADA, dem PADA-HIT und dem PADA-RASS. Zusätzlich wurden eine direkte Vergleichsmessung mit dem PFA-100® sowie Parallelmessungen bezüglich der ASS-Resistenz-Diagnostik durchgeführt. Sämtliche Erhebungen erfolgten im Rahmen einer diagnostischen Untersuchung und zogen keine therapeutischen Konsequenzen nach sich.

### **4.3.2 Entnahme und Weiterverarbeitung der Blutproben**

Die Blutentnahmen der Patienten erfolgten in der Klinik für Innere Medizin I des Universitätsklinikums Jena im Rahmen von elektiven Blutabnahmen während des stationären Aufenthaltes. Die Blutentnahmen der Probanden erfolgten in der AG „Pharmakologische Hämostaseologie“. Es wurde auf eine kurze Stauung geachtet. Nach exakter Punktion einer Unterarm- oder Ellenbogenvene (V. cephalica oder V. basilica) wurden 5,6 ml bzw. 12,5 ml Blut entnommen (nach 4.3.6.1 und 4.3.5.3). Hierbei wurde entweder eine S-Monovette®-Kanüle oder eine Butterflykanüle verwendet. Die Entnahme erfolgte in Citrat- und Heparin-Monovetten. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Monovetten exakt bis zur Markierung befüllt und eine Schaumbildung während der Probenentnahme sowie eine zusätzliche Aktivierung der Blutplättchen während des Transports der Proben vermieden wurden. Das Blut wurde durch vorsichtiges Schwenken der Monovette mit dem jeweiligen Antikoagulant vermischelt. Umgehend nach der Entnahme erfolgten die Plättchenfunktionsmessungen, so dass ein Zeitfenster von 60 Minuten zwischen Abnahme der Probe und Beendigung der Untersuchung nicht überschritten wurde. Die Blutproben wurden ausnahmslos bei Raumtemperatur verarbeitet. Im Vorfeld der Messungen wurde ein Blutbild mit Hilfe des Blutzellautomaten KX-21 sowohl im Heparin- als auch im Citratblut erstellt. Eine Qualitätskontrolle diesbezüglich wurde täglich durchgeführt und dokumentiert (Eightcheck–3WP-H). Ebenfalls erfolgten regelmäßige gerätespezifische Wartungsmaßnahmen (Stromatolyser®-WH, Cellclean™).

### **4.3.3 Testprinzip des PADA**

Der PADA (Platelet ADhesion Assay) ist ein Plättchenfunktionstest zur quantitativen Messung der Plättchenadhäsivität im Blut sowie zur Untersuchung der Wirkung von GPIIb/IIIa- und ADP-Rezeptor-Antagonisten auf die Blutplättchenfunktion (Nowak et al. 2005, Schumann et al. 2005). Die Testdurchführung erfolgt im citratantikoagulierten Vollblut (3,8 %). Der Blutprobe wird eine definierte Anzahl von speziell designten Polymerpartikeln zugesetzt. Diese bestehen aus Polyphenylmethacrylat und haben einen Durchmesser von 5,5 bis 6,5 µm. Durch die speziellen morphologischen Eigenschaften dieser Polymerpartikel wird deren Oberfläche nach Zugabe in die zu untersuchende

Blutprobe sofort und spezifisch mit Fibrinogenmolekülen beschichtet. Der PADA arbeitet mit einem definiertem Scherstress und ohne Zugabe von Plättchenaktivierenden Substanzen. Die hierbei angewandte Schüttelfrequenz ist angelehnt an die Physiologie der Plättchenaktivierung und entspricht den Scherkräften, die auf die zirkulierenden Blutplättchen in den präkapillären Widerstandsgefäßen wirken (Arteriolen mit 20-30  $\mu\text{m}$  Durchmesser) (Nowak et al. 2005). Während der kurzen Schüttelinkubationsphase von fünf Minuten kommt es aufgrund dieser auf die Plättchen wirkenden Scherkräfte bei einem Teil der Plättchenpopulation zur Aktivierung der GPIIb/IIIa- sowie GPIa/IX-Rezeptoren. Dadurch erfolgt schließlich die Adhäsion aktivierter Plättchen an die Fibrinogen-Polymerpartikel-Komplexe. Dieser Vorgang ist in Abbildung 4.3 dargestellt.

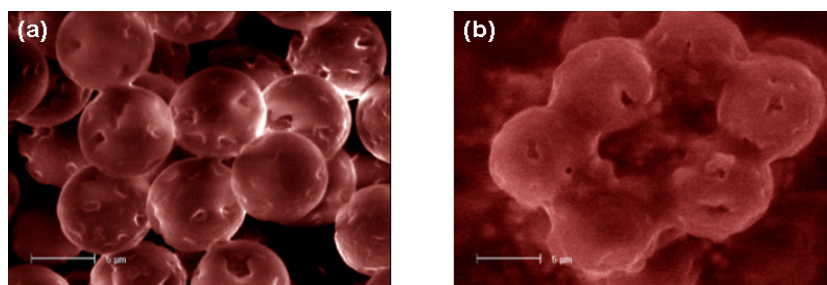


Abbildung 4.3: (a) PADA-Polymerpartikel vor der Anwendung. (b) PADA-Polymerpartikel, die von aktivierten Blutplättchen umhüllt sind (Nowak et al. 2005).

In der Zirkulation befinden sich Blutplättchen, deren Membranpotential bereits modifiziert wurde, beispielsweise durch mechanische Einflüsse oder ineffektive Rezeptor-Interaktionen. Diese reagieren verstärkt und mit zunehmender Adhäsivität auf den definierten Scherstress. Dabei ist es von großer Bedeutung, die im Test einwirkenden Scherkräfte zeitlich so zu begrenzen, dass keinesfalls eine primäre Aggregation der Blutplättchen induziert wird (Nowak et al. 2005). Bei den Messungen wird eine Kontrollprobe ohne Partikelzusatz als Bezugswert mitgeführt.

Mit Hilfe eines Blutzellautomaten werden sowohl in der Partikel- als auch in der Kontrollprobe die freien, nicht an die Polymerpartikel adhären Plättchen gezählt. Auf dieser Basis erfolgt schließlich die Kalkulation des sogenannten Adhäsionsindex' (AI, nach 4.3.4.1). Der AI reflektiert demnach die Adhäsivität der Blutplättchenpopulation als Maß des aktuellen Funktionszustandes der Plättchen im Organismus. Er zeigte sich in bisherigen Untersuchungen unabhängig von der Blutplättchenanzahl der Probe (100-

350 k/μl), vom Fibrinogenspiegel (1-5 g/l), Hämatokrit (25-44 %) und Geschlecht, wobei das Alter einen minimalen, nicht signifikanten Einfluss hatte (Nowak et al. 2005).

#### **4.3.4 Testprinzip des PADA-HIT**

Der PADA-HIT (HIT = Heparin-induzierte Thrombozytopenie) stellt eine Modifizierung des PADA dar (Nowak 2009). Im Unterschied zu diesem misst der PADA-HIT die Plättchenadhäsivität im Citrat- und Heparinblut. In klinisch-pharmakologischen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Blutplättchen durch Heparin direkt aktiviert werden (Kelton et al. 1988, Newman und Chong 2000, Nowak 2009). Heparin bindet an spezielle Glycosaminoglykanrezeptoren der Plättchen (GPIIIa). Infolgedessen kommt es in Verbindung mit Scherkräften zur Freisetzung von Arachidonsäure aus der Phospholipidmembran der Plättchen. Die Arachidonsäure wird schließlich mit Hilfe der COX-1 unter anderem in Thromboxan A<sub>2</sub> umgewandelt, wodurch eine Plättchenaktivierung bewirkt wird. Im Extremfall kann es zur Induktion von flüchtigen Plättchenaggregaten kommen. Diese sind in vivo durch einen Abfall der Plättchenzahl nach einer intravenösen Heparintherapie (HIT I) zu messen. Die Heparin-bedingte Plättchenaktivierung ist auch in vitro mit dem PADA-HIT darstellbar und zeigt sich in Form eines erhöhten Adhäsionsindex' im Heparinblut verglichen mit dem AI im citratantikoaguliertem Blut. Diese Konstellation ändert sich jedoch beim Vorliegen von HIT-II-Antikörpern. Hierbei binden die HIT-II-spezifischen, großen IgG-Antikörper an die FcγIIa-Rezeptoren der Blutplättchen und behindern die in unmittelbarer Nähe zu diesen Rezeptoren befindlichen Bindungsstellen für Heparin. Je mehr IgG-Antikörper die FcγIIa-Rezeptoren besetzen, desto weniger ist das Heparin fähig, an den Glycosaminoglykanrezeptor GPIIIa zu binden und dadurch eine Plättchenaktivierung auszulösen. Dies äußert sich wiederum darin, dass der AI im Heparinblut dem im Citratblut entspricht bzw. sogar niedrigere Werte annimmt. Anhand dieser paradoxen Reaktion lassen sich mit Hilfe des PADA-HIT plättchengebundene HIT-II-Antikörper indirekt im Heparinblut erfassen. Dies konnte in früheren Untersuchungen durch einen Vergleich mit dem „Serotonin-Release-Assay“ (<sup>14</sup>C-SRA) , dem Goldstandard für eine HIT-II-Antikörper-Diagnostik, und einer dabei ermittelten Übereinstimmung von 98 % verifiziert werden (Nowak et al. 2003).

#### **4.3.4.1 Testdurchführung des PADA und des PADA-HIT**

Für die praktische Durchführung der Untersuchungen wurde der PADA- sowie das PADA-HIT-Test-Kit eingesetzt, deren Verwendung gemäß den Herstellerangaben erfolgte. Vor der Anwendung wurden die entsprechenden Reagenzien mindestens 20 Minuten bei Raumtemperatur gelagert.

Die Durchführung des PADA erfolgte unter Einhaltung des vorgegebenen Zeitfensters von 40 - 60 Minuten nach Blutentnahme. Nach einer Homogenisierung der Blutprobe durch vorsichtiges Schwenken wurden jeweils 200 µl citratantikoaguliertes Vollblut in ein Proben- sowie ein Kontrollröhrchen pipettiert. Hierbei wurde eine Luftblasenbildung strikt vermieden. In das Probenröhrchen wurden anschließend 10 µl Partikelsuspension gegeben. Diese wurde zur Vermeidung von Abweichungen der Partikelanzahl unmittelbar vor der Zugabe mittels Vortexer homogenisiert. Bei der Kontrollprobe erfolgte anstelle der Partikelsuspension die Zugabe von 10 µl Kontrolllösung. Anschließend wurden die beiden Proben einer Schüttelinkubationsphase von exakt fünf Minuten ausgesetzt. Hierbei wurde ausschließlich ein methodenspezifisch kalibrierter Schüttler verwendet. Dieser wurde zur Vermeidung einer Abweichung der Schüttelfrequenz in der „Aufwärmphase“ mindestens 20 Minuten vor der Nutzung eingeschaltet. Unmittelbar nach Ablauf der Schüttelinkubation erfolgten Doppelmessungen der Blutplättchenanzahl in Kontroll- und Partikelprobe zur Kalkulation des Adhäsionsindex'.

Bei den Untersuchungen mit dem PADA-HIT wurde analog zur PADA-Prozedur ein identischer Messansatz mit Heparinblut erstellt. In Abbildung 4.4 ist der Messablauf des PADA-HIT mit Hilfe eines Fließschemas dargestellt.

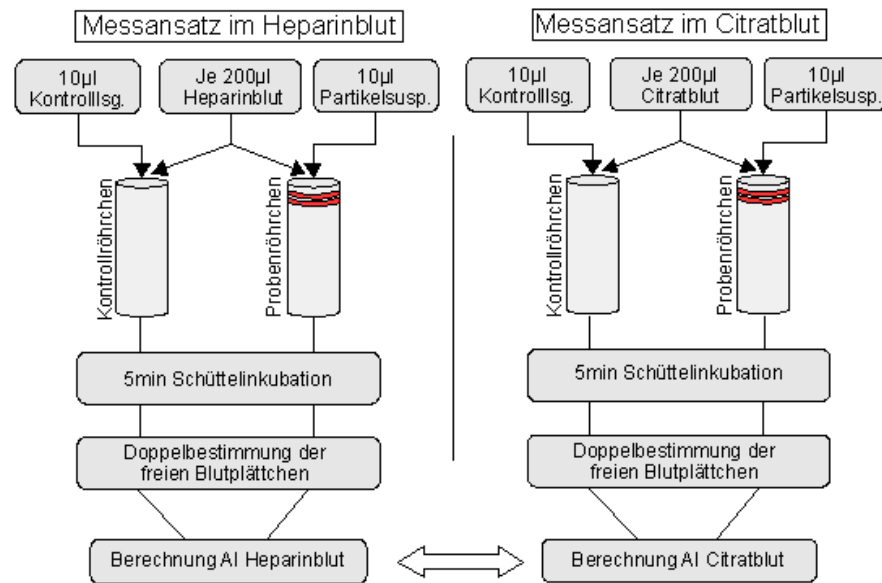


Abbildung 4.4: Fließschema der Durchführung des PADA-HIT

#### 4.3.4.2 Auswertung des PADA und PADA-HIT

Aus den Doppelbestimmungen der Anzahl der freien Blutplättchen (PLT) in Partikel- und Kontrollprobe wurden zunächst die Mittelwerte (MW) berechnet und darauf basierend der Adhäsionsindex (AI) nach folgender Formel ermittelt:

$$AI = \frac{PLT_{Kontrollprobe} - PLT_{Partikelprobe}}{PLT_{Kontrollprobe}} * 100$$

Der Normwert des AI im Citratblut liegt laut Herstellerangaben bei  $50 \pm 15$  (MW  $\pm 2$  Standardabweichung). Ein PADA-AI, welcher größer als 65 war, galt als pathologisch im Sinne einer gesteigerten Plättchenadhäsivität. Strukturelle oder qualitative Variationen des von-Willebrand-Faktors (vWF) führen dagegen zu einer verringerten Adhäsivität (Nowak et al. 2005) und dementsprechend einem verringerten PADA-AI (AI < 30). Somit ist es möglich, auch ein sogenanntes erworbenes von-Willebrand-Syndrom zu detektieren.

Die Auswertung des PADA-HIT beruht auf der Gegenüberstellung der Adhäsionsindizes im Heparin- und Citratblut. Hierbei galt folgendes Auswerteschema:

$$\begin{aligned} AI_{Citrat} \geq AI_{Heparin} &\Rightarrow HIT-II-AK \text{ positiv} \\ AI_{Citrat} < AI_{Heparin} &\Rightarrow HIT-II-AK \text{ negativ} \end{aligned}$$

Zusätzlich wurde bei der Interpretation der anfänglich erstellten Blutbilder (siehe Punkt

4.3.2) der Verdacht auf vorliegende HIT-II-Antikörper (AK) geäußert, wenn die Plättchenanzahl im Heparinblut die im Citratblut als Zeichen einer Spontanaggregation um mindestens 20 k/ $\mu$ l unterschritt.

#### 4.3.5 Testprinzip des PADA-RASS

Der PADA-RASS (RASS = **R**esistenz gegenüber **ASS**) stellt eine neue Methode zur Untersuchung der ASS-Resistenz dar. Es handelt sich hierbei ebenfalls um eine Modifikation des PADA. Der PADA-RASS kann sowohl unter einer laufenden ASS-Behandlung als auch ohne vorherige ASS-Einnahme angewendet werden. Die Testdurchführung erfolgt ausschließlich im heparinantikoagulierten Vollblut. Zu der Heparin-Blutprobe wird eine pharmakodynamisch wirksame Dosis von ASS zugegeben. Als Basiswert wird eine Probe mitgeführt, die statt ASS eine 0,9%ige Natriumchloridlösung enthält. Der PADA-RASS arbeitet analog zum PADA mit dem gleichen Testprozedere (siehe Punkt 4.3.3). In der Kontrollprobe kommt es zu einer Bindung der Heparinmoleküle an Glycosaminoglykanrezeptoren. Diese Rezeptor-Interaktion resultiert in Folge des angewandten Scherstress in einer starken Plättchenaktivierung und damit in einer Bindung der aktivierten Plättchen an die Fibrinogen-Polymerpartikel-Komplexe. Die Acetylsalicylsäure in der Verumprobe ist dagegen im Normalfall in der Lage, diese Heparinwirkung bei einem Großteil der Blutplättchen zu hemmen. Die Anzahl der aktivierten, an die Partikel gebundenen Plättchen ist somit geringer als in der Probe ohne ASS, woraus eine erhöhte Anzahl an freien Plättchen und schließlich ein erniedrigter Adhäsionsindex resultiert. Dieser wird analog zum PADA in beiden Proben berechnet. Mit Hilfe der Gegenüberstellung der Adhäsionsindizes lässt sich letztendlich eine direkte Aussage über die Ansprechbarkeit der Blutplättchen auf ASS in der dargestellten Testsituation machen. Hierbei können neben den sogenannten ASS-Respondern zwei ASS-Resistenzgruppen erfasst werden: ASS-Nonresponder, bei welchen die Blutplättchen keine Reaktion auf ASS zeigen, und die sogenannte PRASA (= **p**aradoxical **r**eaction on **ASA**). Bei der PRASA-Resistenz kommt es paradoxerweise anstelle einer Inhibition zu einer Aktivierung der Blutplättchen durch ASS, der AI im ASS-haltigen Heparinblut ist größer als der in der Kontrolle ohne ASS.

#### 4.3.5.1 Testdurchführung des PADA-RASS

Der Ablauf der Testdurchführung des PADA-RASS wurde als Fließschema in Abbildung 4.5 dargestellt, wobei analog zur Durchführung des PADA und PADA-HIT auf eine standardisierte Umsetzung der einzelnen Messschritte geachtet wurde. Die hierbei verwendeten Materialien und Reagenzien entsprechen denen von Punkt 4.3.4.1, die zugegebene Dosis der ASS (Aspisol® bzw. Aspirin® i.v.) lag bei 1,25 mg ASS pro 10 µl.

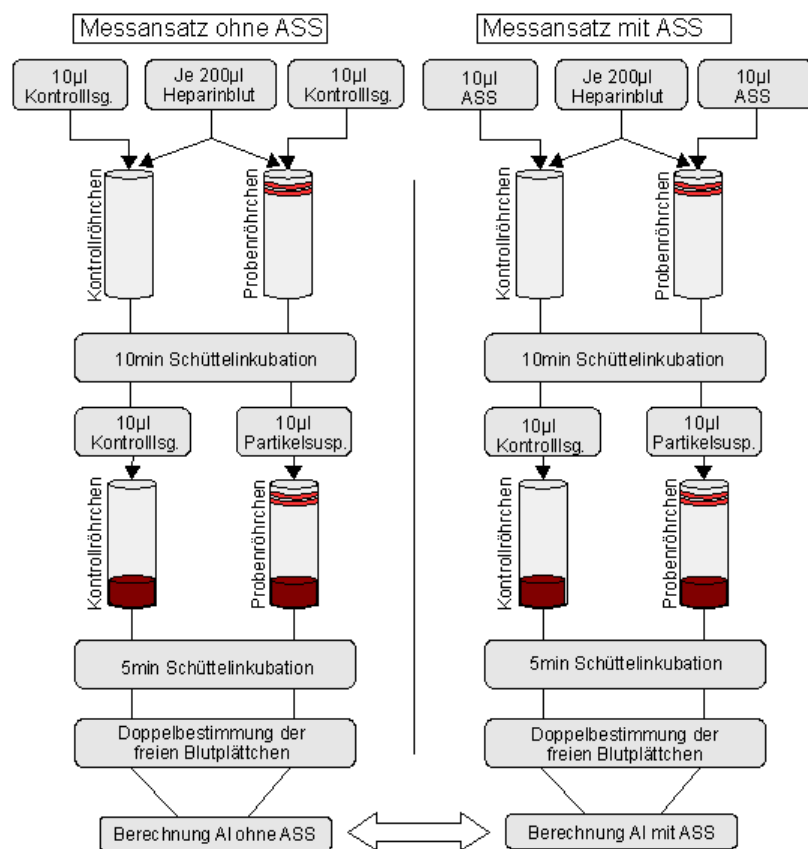


Abbildung 4.5: Fließschema der Durchführung des PADA-RASS



#### 4.3.5.2 Auswertung des PADA-RASS

Aus den Doppelmessungen der Anzahl der freien Blutplättchen in Partikel- und Kontrollprobe wurden zunächst die jeweiligen Mittelwerte berechnet und darauf basierend der Adhäsionsindex (AI) für beide Messansätze nach bekannter Formel ermittelt (siehe Punkt 4.3.4.2).

Die Interpretation der Messergebnisse des PADA-RASS erfolgte nach folgendem Auswerteschema:

$$\begin{aligned} AI_{ohne\ ASS} &> AI_{mit\ ASS} && \Rightarrow ASS - Responder \\ AI_{ohne\ ASS} &= AI_{mit\ ASS} (\pm 3) && \Rightarrow ASS - Nonresponder \\ AI_{ohne\ ASS} &< AI_{mit\ ASS} && \Rightarrow PRASA \text{ (paradoxical reaction on ASA)} \end{aligned}$$

#### 4.3.5.3 Durchführung der Parallelmessungen

Es erfolgten Parallelmessungen zur Prüfung der Reproduzierbarkeit des PADA-RASS bei insgesamt zehn Probanden. Zur weitestgehenden Ausschaltung von äußeren Störfaktoren wurden die Rahmenbedingungen der Messungen konstant gehalten: Es erfolgte eine nur einmalige Blutabnahme zur Vermeidung der etwaigen Beeinflussung der Messergebnisse durch inkorrekte Gefäßpunktion. Die Durchführung der Messungen entspricht den Ausführungen in Punkt 4.3.5.1 und fand durch zwei mit dem Test vertraute Untersucher direkt aufeinander folgend statt (Zeitabstand fünf Minuten). Von beiden Untersuchern wurden ausschließlich identische Geräte und Reagenzien, auch der PADA-Test-Kit, verwendet.

#### 4.3.6 Testprinzip des PFA-100®

Der „Platelet Function Analyzer“ (PFA) dient der schnellen Erfassung von Störungen der primären Hämostase. Der Test arbeitet mit citratantikoaguliertem Vollblut und beruht bezüglich seiner Funktionsweise auf dem von Kratzer und Born beschriebenen Prinzip (Kratzer et al. 1985, Kratzer und Born 1985). Zur Messung wird eine PFA-100®-Einwegmesszelle verwendet. Diese besteht aus einer Kapillare, einem Probenreservoir und einer biologisch aktiven Membran mit einer zentralen Öffnung von 147 µm Durchmesser. Die Membran ist mit Kollagen sowie zusätzlich mit Epinephrin oder ADP beschichtet. Die Vollblutprobe wird per Vakuum und unter Entstehung hoher

Scherkräfte durch die Kapillare zur Membran gesaugt. Die Blutplättchen haften nun, über den von-Willebrand-Faktor vermittelt, an der Membran und werden zusätzlich durch Epinephrin bzw. ADP aktiviert. Folglich kommt es auf der Membran zur Aggregation der Plättchen und schließlich zur Bildung eines Plättchenthrombus. Dieser verengt und verschließt letztendlich die zentrale Öffnung der Membran, wodurch der Blutfluss zum Erliegen kommt (Kundu et al. 1996). Das Zeitintervall zwischen dem ersten Kontakt der Blutprobe mit der Membran und dem Verschluss der Öffnung wird als Verschlusszeit (VZ) bezeichnet. Diese stellt einen Indikator für die Thrombozytenfunktion der Blutprobe dar und ist abhängig von der Thrombozytenzahl, dem Hämatokrit sowie von Gehalt und Funktion des vWF (Kundu et al. 1996). Die Messzelle Kollagen/Epinephrin wird primär zur Erkennung von allen, darunter auch ASS-bedingten Thrombozytenfunktionsstörungen angewandt. Ist die Verschlusszeit mit der Kollagen/Epinephrin-Messzelle verlängert, dient die Kollagen/ADP-Messzelle laut Herstellerangaben zur Differenzierung zwischen ASS-Effekt und vW-Erkrankungen bzw. Thrombozytenfehlfunktionen.

#### **4.3.6.1 Testdurchführung und Auswertung der PFA-100®-Vergleichsmessungen**

Vor Beginn der Untersuchungen wurden die Messzellen fünfzehn Minuten bei Raumtemperatur gelagert und die Blutproben frühestens nach zehn Minuten verarbeitet. Nach einer Homogenisierung der Blutproben wurden 900 µl Citratblut mit 45 µl ASS (Aspisol®) für zehn Minuten inkubiert. Anschließend wurde die Probe in eine Kollagen/Epinephrin-Messzelle unter Vermeidung von Luftblasenbildung pipettiert und die Verschlusszeit bestimmt (Dade® PFA). Eine ASS-Resistenz lag definitionsgemäß vor, wenn die Verschlusszeit trotz ASS im Normbereich (85-165 Sekunden) lag. Eine Verschlusszeit, die größer als 300 Sekunden war, wurde als fehlender Verschluss interpretiert. Hämolytische Proben sowie Proben mit einem Hämatokrit kleiner als 35 % und einer Thrombozytenzahl kleiner als 150 k/µl wurden von den Messungen ausgeschlossen.

Umgehend nach der Durchführung der PFA-100®-Untersuchungen wurden die Blutproben entsprechend den Ausführungen in Punkt 4.3.5.1 einer Analyse mit dem PADA-RASS unterzogen.

#### 4.3.6.2 Modifizierung des PFA-100®

Im Verlauf der Vergleichsmessungen erfolgten diverse Modifizierungen des PFA-100®-Verfahrens. Zunächst wurde die in-vitro-Zugabe von ASS (45 µl ASS/ 900 µl Vollblut) eingeführt. Hierbei wurde eine Bezugsprobe ohne ASS entsprechend des Testprinzips des PADA-RASS mitgeführt. In einem weiteren wesentlichen Modifizierungsschritt wurde Heparinblut in den PFA-100®-Messungen verwendet, um eine Vergleichbarkeit mit dem PADA-RASS zu erreichen. Hierbei wurden ebenfalls Messungen ohne ASS im Vergleich zu Ansätzen mit ASS durchgeführt. Es galten folgenden Auswerteschemata:

$$\begin{aligned} VZ_{ohne\ ASS} < VZ_{mit\ ASS} &\Rightarrow ASS - Responder \\ VZ_{ohne\ ASS} = VZ_{mit\ ASS} \pm 10s &\Rightarrow ASS - Nonresponder \\ VZ_{ohne\ ASS} > VZ_{mit\ ASS} &\Rightarrow PRASA \end{aligned}$$

Die während der Modifizierungen des PFA-100® angewendeten Geräte und Reagenzien entsprechen, falls nicht gesondert erwähnt, denen der Durchführung der PFA-100®-Vergleichsmessungen. Die ermittelten Ergebnisse wurden mit denen des PADA-RASS verglichen.

## 4.4 Statistische Angaben

Sämtliche erhobenen Daten wurden in „Microsoft® Excel 2002“ gesammelt und mit Hilfe des Statistikprogramms „SPSS 15.0 für Windows®“ ausgewertet.

Für metrisch skalierte Daten wurden Mittelwert, Standardabweichung, Median, Minimum und Maximum berechnet. Bei kategorisch skalierten Daten erfolgte die Angabe der absoluten und relativen Häufigkeiten, wobei eventuelle Abweichungen zu 100 % rundungsbedingt sind. Die statistische Prüfung auf signifikante Unterschiede erfolgte bei den kategorisch skalierten Merkmalen mittels Chi-Quadrat-Test bzw. bei kleinen Fallzahlen mittels Exaktem Test nach Fisher. Bei den metrisch skalierten Daten erfolgte im Vorfeld der Signifikanztests die Prüfung auf Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-Test (Signifikanzkorrektur nach Lilliefors mit  $p > 0,1$ ) bzw. bei Fallzahlen unter 50 mittels Shapiro-Wilk-Test. Im Vorfeld des t-Tests wurde weiterhin der Levene-Test der Varianzgleichheit durchgeführt ( $p > 0,1$ ). Für den univariaten Vergleich der quantitativen Merkmale zwischen zwei Gruppen wurde der t-Test für unverbundene Stichproben bzw. der Mann-Whitney-U-Test bei fehlender

Normalverteilung angewandt. Die Prüfung auf signifikante Unterschiede zwischen mehr als zwei Gruppen erfolgte mittels einfaktorieller Varianzanalyse (ANOVA) bzw. Kruskal-Wallis-Test bei fehlender Normalverteilung. Bivariate Korrelationsanalysen mit zweiseitiger Testung auf Signifikanz wurden zur Prüfung des Zusammenhangs zwischen zwei metrisch skalierten Merkmalen verwendet. Hierbei wurde der Maßkorrelationskoeffizient nach Pearson ( $r_p$ ) zur Beschreibung des linearen Zusammenhangs berechnet und nach folgendem Schema ausgewertet:

$$\begin{aligned} 0,0 < |r_p| < 0,3 &\Rightarrow \text{schwacher linearer Zusammenhang} \\ 0,3 \leq |r_p| < 0,7 &\Rightarrow \text{mittlerer linearer Zusammenhang} \\ 0,7 \leq |r_p| \leq 1,0 &\Rightarrow \text{starker linearer Zusammenhang} \end{aligned}$$

Die Bewertung der Signifikanzen wurde wie folgt vorgenommen:

$$\begin{aligned} p \leq 0,05 &\Rightarrow \text{signifikant} && * \\ p < 0,01 &\Rightarrow \text{sehr signifikant} && ** \\ p < 0,001 &\Rightarrow \text{hochsignifikant} && *** \end{aligned}$$

Weiterhin erfolgten Regressionsanalysen zur Adjustierung bezüglich der Störgrößen Alter und Geschlecht. Im Fall einer logistischen Regression wurde hierbei als Effektmaß das sogenannte Odds Ratio angegeben, welches definiert ist als das Verhältnis der Chancen zwischen zwei Gruppen. Hierbei galt:

$$\begin{aligned} \text{Odds Ratio} = 1 &\Rightarrow \text{kein Unterschied der Chancen} \\ \text{Odds Ratio} > 1 &\Rightarrow \text{Chance der Referenzkategorie ist kleiner} \\ \text{Odds Ratio} < 1 &\Rightarrow \text{Chance der Referenzkategorie ist größer} \end{aligned}$$

Zur Beurteilung der Reliabilität der Messergebnisse des PADA-RASS wurde die zufallskorrigierte Übereinstimmung nach Cohen berechnet (= Cohen's Kappa). Hierbei wurde folgendes Auswerteschema verwendet:

$$\begin{aligned} \text{Kappa} \leq 0,2 &\Rightarrow \text{schlechte Übereinstimmung} \\ 0,2 < \text{Kappa} \leq 0,4 &\Rightarrow \text{mäßige Übereinstimmung} \\ 0,4 < \text{Kappa} \leq 0,6 &\Rightarrow \text{moderate Übereinstimmung} \\ 0,6 < \text{Kappa} \leq 0,8 &\Rightarrow \text{gute Übereinstimmung} \\ \text{Kappa} > 0,8 &\Rightarrow \text{sehr gute Übereinstimmung} \end{aligned}$$

Für die grafische Darstellung der statistisch signifikanten Ergebnisse wurden neben „SPSS 15.0“ zusätzlich „OriginPro 7.5“ sowie „Inkscape 0.46“ angewandt. Die Darstellung der Resultate erfolgte unter anderem mit Hilfe von Box-Whisker-Plots,

wobei die unteren und oberen Begrenzungslinien der Box durch das 25. und 75. Perzentil der Messergebnisse festgelegt wurden. Innerhalb der Box wird der Median durch eine horizontale Linie markiert. Die Whiskers (vertikale Linienstücke) wurden unterhalb bzw. oberhalb der Box abgetragen, wobei die Linienendpunkte durch den größten bzw. kleinsten nicht extremen Wert definiert waren. Die außerhalb dieses Bereichs liegenden Extremwerte werden durch einen separaten Punkt dargestellt und sind dadurch gekennzeichnet, dass ihr Abstand vom 75 % (bzw. vom 25 %)-Perzentil größer ist als das 1,5-Fache des Abstandes zwischen dem 25 %- und dem 75 %-Perzentil.

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Plättchendiagnostik in den Studienkollektiven

Mit dem Ziel einer umfassenden Plättchenfunktionsdiagnostik wurde im Vorfeld der Messungen bei allen Probanden und Patienten der Ausgangswert der Blutplättchenzahl sowohl im Citrat- als auch im Heparinblut bestimmt. Im folgenden Gliederungspunkt wird die Auswertung dieser Messergebnisse kurz dargelegt.

#### 5.1.1 Plättchenzahlen der Probanden und Patienten

Die mittlere Plättchenzahl im Citratblut der Probanden lag bei  $239 \pm 49$  k/ $\mu$ l. Der Mittelwert der Plättchenzahl im Heparinblut betrug  $232 \pm 45$  k/ $\mu$ l (Tabelle 5.1). Im Vergleich dazu zeigte sich bei den Patienten im Citratblut eine mittlere Plättchenzahl von  $217 \pm 80$  k/ $\mu$ l und von  $191 \pm 75$  k/ $\mu$ l im Heparinblut (Tabelle 5.1).

#### 5.1.2 Vergleich der Plättchenzahlen zwischen den Studienkollektiven

Hinsichtlich des Ziels der vergleichenden Plättchendiagnostik zwischen gesunden Probanden und kardiovaskulären Patienten wurden die Ausgangswerte der Plättchenanzahl auf signifikante Unterschiede zwischen den Kollektiven untersucht. Hierbei wurde aufgrund der fehlenden Normalverteilung der Werte in beiden Studienpopulationen der Mann-Whitney-U-Test eingesetzt. Die Resultate sind in Tabelle 5.1 aufgezeigt.

Tabelle 5.1: Mann-Whitney-U-Test der Plättchenausgangswerte der Studienpopulationen

Merkmal	Studien-population	N	Mittelwert und Standard-abweichung	Median	Mini-mum	Maxi-mum	Mann-Whitney-U-Test: Asymptotische Signifikanz (2-seitig)
Plättchenzahl im Citratblut [k/ $\mu$ l]	Probanden	100	$238,83 \pm 48,80$	233,50	139	438	$p = 0,000^{***}$
	Patienten	87	$217,17 \pm 79,94$	199,00	77	477	
Plättchenzahl im Heparinblut [k/ $\mu$ l]	Probanden	100	$231,54 \pm 44,99$	225,50	130	325	$p = 0,000^{***}$
	Patienten	87	$191,00 \pm 75,04$	174,00	82	396	

Die Plättchenzahlen sowohl im Citrat- als auch im Heparinblut unterschieden sich hochsignifikant zwischen den Kollektiven ( $p = 0,000$ ), wobei jeweils höhere Plättchenzahlen bei den Probanden vorlagen. Abbildung 5.1 veranschaulicht diesen Sachverhalt mit Hilfe von Box-Whisker-Plots.

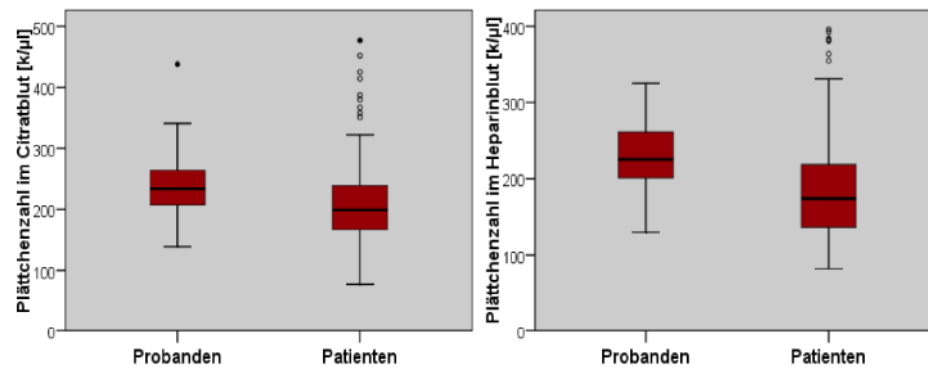


Abbildung 5.1: Plättchenzahl im Citrat- und Heparinblut in Abhängigkeit von der Studienpopulation

## 5.2 Plättchenfunktionsdiagnostik mit dem PADA

Mit Hilfe des PADA wurde bei den 100 gesunden Probanden sowie den 87 stationären Kardiologiepatienten der Adhäsionsindex im Citratblut ermittelt. Dieser ist ein quantitatives Maß der Blutplättchenadhäsivität und spiegelt folglich den aktuellen Reaktivitätszustand der Plättchenpopulation wider (nach Punkt 4.3.3). Zusätzlich wurde der Einfluss ausgewählter Blutbildparameter und Erkrankungen sowie des Geschlechts und des Alters auf den PADA-AI untersucht. Abschließend erfolgte der Vergleich der Adhäsionsindizes zwischen den beiden Kollektiven.

### 5.2.1 Plättchenadhäsivität der Probanden

Der mittlere PADA-Adhäsionsindex bei den gesunden Probanden lag bei  $44 \pm 18$  mit einem Median von 42. In Tabelle 5.2 sind diese und weitere Kennwerte der PADA-Adhäsionsindizes der gesunden Probanden zusammengefasst. Abbildung 5.2 zeigt das Histogramm der Adhäsionsindizes der Probanden.

Bei 69 % der Probanden wurde ein AI im Normbereich ermittelt, wohingegen 19 % einen erniedrigten (AI Citrat  $< 30$ ) und 12 % einen erhöhten AI (AI Citrat  $> 65$ ) zeigten.

Tabelle 5.2: Statistische Daten der PADA-Adhäsionsindizes der Probanden

N	100
Mittelwert	44,42
Median	41,88
Standardabweichung	17,98
Maximum	96
Minimum	14

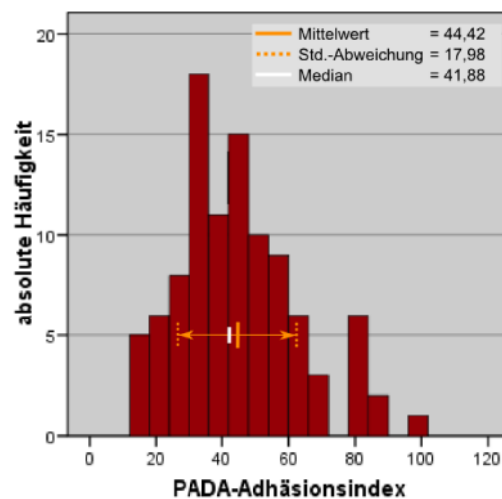


Abbildung 5.2: PADA-Adhäsionsindizes der Probanden

Mittels einer bivariaten Korrelationsanalyse mit zweiseitiger Testung auf Signifikanz wurde untersucht, inwiefern eine lineare Korrelation zwischen dem Adhäsionsindex im Citratblut sowie ausgewählten Blutbildparametern und dem Alter der Probanden bestand. Die Ergebnisse sind der Tabelle 5.3 zu entnehmen.

Tabelle 5.3: Korrelationsanalyse PADA-AI der Probanden und metrisch skalierte Merkmale

Merkmal	Korrelationskoeffizient nach Pearson	Signifikanz (2-seitig)
Alter zum Messzeitpunkt	$r_p = 0,022$	$p = 0,825$
Hämatokrit im Citratblut	$r_p = -0,144$	$p = 0,161$
Erythrozytenzahl im Citratblut	$r_p = -0,111$	$p = 0,282$
Leukozytenzahl im Citratblut	$r_p = -0,163$	$p = 0,112$
Plättchenzahl im Citratblut	$r_p = -0,323^{**}$	$p = 0,001^{**}$

Aus Tabelle 5.3 geht hervor, dass die Plättchenzahl im Citratblut und der PADA-Adhäsionsindex signifikant miteinander korrelierten ( $r_p = -0,323$ ,  $p = 0,001$ ).

Bei den Probanden hatte demnach eine steigende Plättchenzahl einen sinkenden AI im



Citratblut zur Folge. Dieser Zusammenhang lässt sich anhand Abbildung 5.3 nachvollziehen.

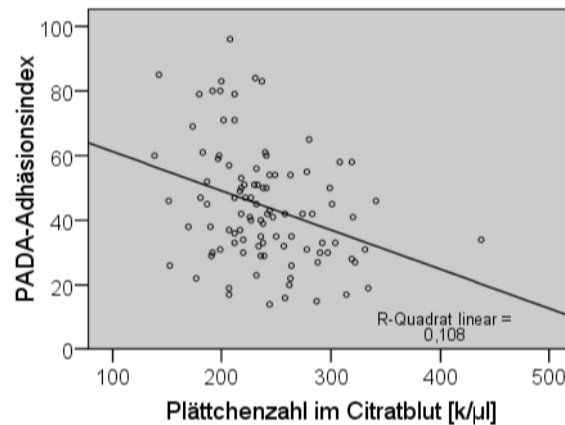


Abbildung 5.3: PADA-Adhäsionsindizes der Probanden in Abhängigkeit von der Plättchenzahl im Citratblut

Zur weiteren Ermittlung eventueller Einflussfaktoren des PADA-AI wurde dessen Abhängigkeit vom Geschlecht sowie von Vorerkrankungen und Besonderheiten zum Messzeitpunkt innerhalb der Probandenpopulation untersucht. Dies geschah mittels t-Test für unverbundene Stichproben bzw. Mann-Whitney-U-Test. Hierbei konnten keine signifikanten Zusammenhänge nachgewiesen werden (Tabelle 5.4). Es ergaben sich jedoch tendenziell höhere Werte des PADA-AI im Falle einer Heparinmedikation in der Vergangenheit ( $p = 0,086$ ) sowie einer bestehenden Dauermedikation ( $p = 0,081$ ).

Tabelle 5.4: Übersicht der PADA-Adhäsionsindizes der Probanden in Abhängigkeit von ausgewählten Merkmalen

Merkmal		N	Mittelwert und Standard- abweichung	Median	Mini- mum	Maxi- mum	t-Test für Mittelwert- gleichheit: Signifikanz (2-seitig)	Mann- Whitney-U- Test: Asymptotische Signifikanz
Geschlecht	weiblich	55	45,84 ± 17,46	43,00	17	96	p = 0,386	-
	männlich	45	42,69 ± 18,65	39,00	14	85		
Arterielle Hypertonie	nein	94	44,41 ± 18,12	42,00	14	96	-	p = 0,879
	ja	6	44,50 ± 17,14	42,50	20	71		
Familiäre Gerinnungs- störungen	nein	94	43,62 ± 17,14	41,50	14	84	p = 0,283	-
	ja	6	57,00 ± 27,11	46,00	27	96		
Allergien	nein	57	43,44 ± 16,37	41,00	16	85	-	p = 0,486
	ja	43	45,72 ± 20,04	45,00	14	96		
Heparinmedikation in der Vergangenheit	nein	80	42,46 ± 16,05	41,00	14	84	p = 0,086	-
	ja	20	52,25 ± 23,08	50,00	17	96		
Dauermedikation	nein	61	42,26 ± 18,06	37,00	14	85	-	p = 0,081
	ja	39	47,79 ± 17,56	46,00	17	96		
Einnahme von hormonellen Kontrazeptiva	nein	24	42,75 ± 15,56	40,50	26	83	-	p = 0,182
	ja	31	48,23 ± 18,69	46,00	17	96		
Chronischer Nikotinabusus	nein	79	45,08 ± 16,63	43,00	14	96	-	p = 0,141
	ja	21	41,95 ± 22,66	31,00	17	85		
Besonderheiten zum Messzeitpunkt	nein	96	44,29 ± 17,84	42,00	14	96	-	p = 0,966
	ja	4	47,50 ± 23,98	37,50	32	83		

## 5.2.2 Plättchenadhäsivität der Patienten

Der mittlere Adhäsionsindex im Citratblut der Patienten betrug  $50 \pm 18$ , der Median 49 (nach Tabelle 5.6). Von den 87 kardiovaskulären Patienten wurde bei 9 (10,3 %) ein erniedrigter AI, bei 61 (70,1 %) ein AI im Normbereich und bei 17 (19,5 %) ein erhöhter AI gemessen. In Abbildung 5.4 ist das Histogramm der PADA-Adhäsionsindizes der Patienten dargestellt.

Tabelle 5.5: Statistische Daten der PADA-Adhäsionsindizes der Patienten

N	87
Mittelwert	50,33
Median	48,63
Standardabweichung	17,636
Maximum	92
Minimum	9

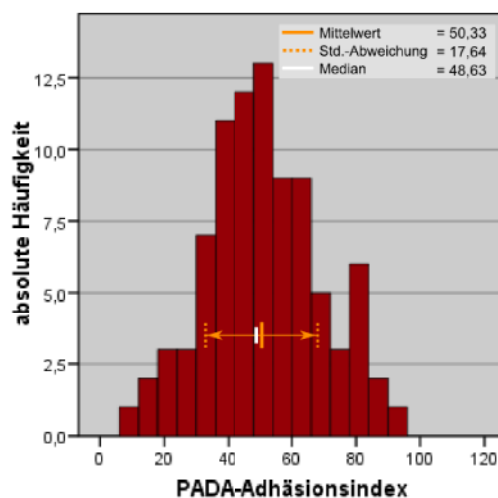


Abbildung 5.4: PADA-Adhäsionsindizes der Patienten

Analog zu den Probanden wurde der Einfluss ausgewählter Merkmale auf den Adhäsionsindex im Citratblut getestet. Hierbei erfolgte zunächst eine bivariate Korrelationsanalyse zur Prüfung eventueller Korrelationen zwischen dem PADA-AI und dem Alter der Patienten, der Liegedauer auf Station bzw. den Blutbildparametern (Tabelle 5.6).

Tabelle 5.6: Korrelationsanalyse zwischen PADA-AI der Patienten und metrisch skalierten Merkmalen

Merkmal	Korrelationskoeffizient nach Pearson	Signifikanz (2-seitig)
Alter zum Messzeitpunkt	$r_p = 0,216^*$	$p = 0,044^*$
Hämatokrit im Citratblut	$r_p = -0,080$	$p = 0,459$
Erythrozytenzahl im Citratblut	$r_p = -0,158$	$p = 0,146$
Leukozytenzahl im Citratblut	$r_p = -0,009$	$p = 0,935$
Plättchenzahl im Citratblut	$r_p = -0,305^{**}$	$p = 0,004^{**}$
Liegedauer auf Station	$r_p = 0,315^{**}$	$p = 0,004^{**}$

Es konnten lineare Zusammenhänge zwischen dem PADA-AI und der Plättchenzahl ( $r_p = -0,305$ ,  $p = 0,004$ ), dem Alter ( $r_p = 0,216$ ,  $p = 0,044$ ) und der Liegedauer auf Station ( $r_p = 0,315$ ,  $p = 0,004$ ) gefunden werden. Hierbei bestanden jeweils höhere Adhäsionsindizes bei zunehmendem Alter und längerer Liegedauer auf Station. Eine zunehmende Plättchenzahl korrelierte dagegen in der vorliegenden Stichprobe mit sinkenden AI-Werten im Citratblut. Abbildung 5.5 gibt die dargelegten Ergebnisse grafisch wieder.

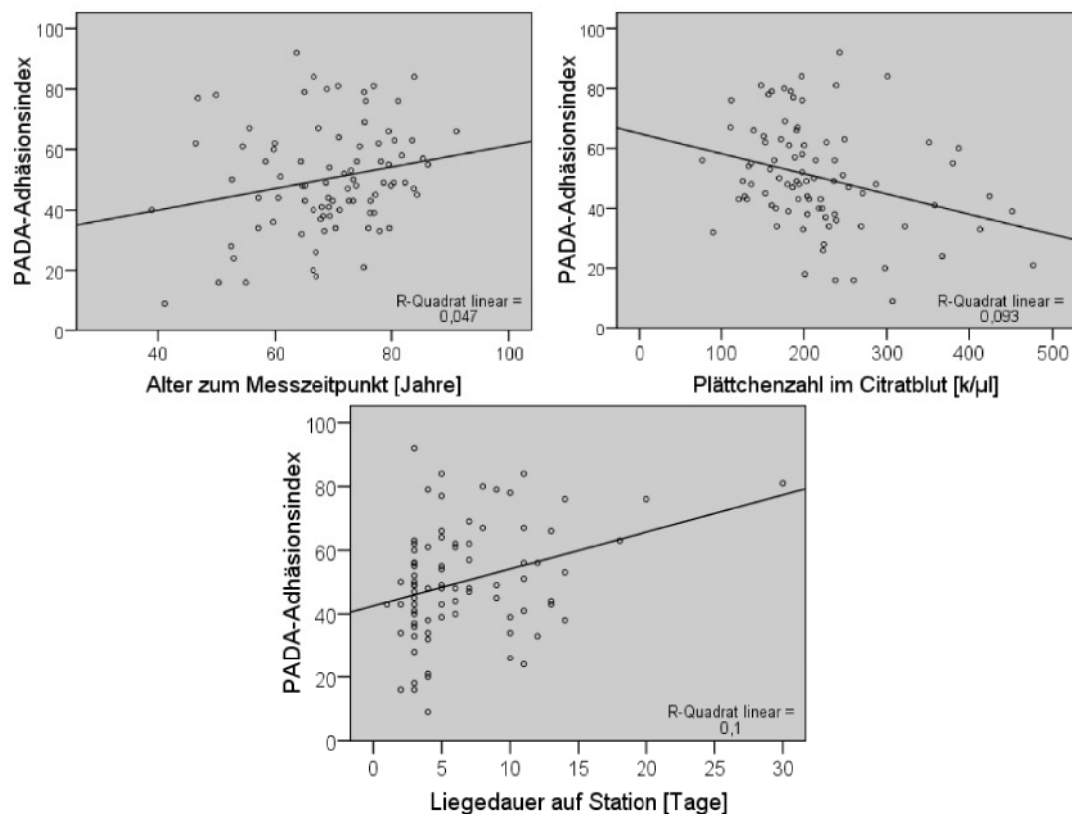


Abbildung 5.5: PADA-Adhäsionsindizes der Patienten in Abhängigkeit von Alter, Plättchenzahl und Liegedauer auf Station

Mit Hilfe des t-Tests für unabhängige Stichproben wurde innerhalb der Patientengruppe der Zusammenhang zwischen PADA-AI und dem Geschlecht, einer Infektion zum Messzeitpunkt, einem chronischen Nikotinabusus sowie den aktuellen Medikationen untersucht (Tabelle 5.7)

Tabelle 5.7: PADA-Adhäsionsindex in Abhängigkeit von ausgewählten Merkmalen innerhalb des Patientenkollektivs

Merkmal		N	Mittelwert und Standard-abweichung	Median	Minimum	Maximum	t-Test für Mittelwert-gleichheit: Signifikanz (2-seitig)
Geschlecht	weiblich	26	51,62 ± 14,12	49,00	28	81	p = 0,661
	männlich	61	49,79 ± 19,02	48,00	9	92	
Infektion zum Messzeitpunkt	nein	70	49,79 ± 17,32	49,00	9	84	p = 0,560
	ja	17	52,59 ± 19,27	47,00	24	92	
Chronischer Nikotinabusus	nein	71	50,94 ± 17,46	49,00	9	92	p = 0,500
	ja	16	47,63 ± 18,76	48,50	16	77	
Monotherapie mit ASS	nein	17	63,53 ± 14,98	62,00	39	92	p = 0,003**
	ja	32	49,50 ± 14,54	48,50	16	79	
Duale Therapie mit ASS und Clopidogrel	nein	17	63,53 ± 14,98	62,00	39	92	p = 0,001**
	ja	38	45,13 ± 18,45	43,50	9	84	
Enoxaparin-Medikation	nein	58	46,60 ± 17,46	47,00	9	92	p = 0,005**
	ja	29	57,79 ± 15,76	57,00	26	84	
Phenprocoumon-Medikation	nein	72	48,58 ± 17,93	48,00	9	92	p = 0,042*
	ja	15	58,73 ± 13,72	57,00	38	81	

In Tabelle 5.7 zeigt sich, dass signifikant niedrigere PADA-AI-Werte unter einer ASS-Monotherapie ( $p = 0,003$ ) sowie unter einer Kombinationstherapie mit ASS und Clopidogrel ( $p = 0,001$ ) im Vergleich zu völlig unbehandelten Patienten vorlagen. Im Gegensatz dazu stellten sich signifikant erhöhte Adhäsionsindizes der Patienten unter Behandlung mit Enoxaparin ( $p = 0,005$ ) bzw. Phenprocoumon ( $p = 0,042$ ) heraus. Abbildung 5.6 veranschaulicht diese Ergebnisse mittels Box-Whisker-Plots.

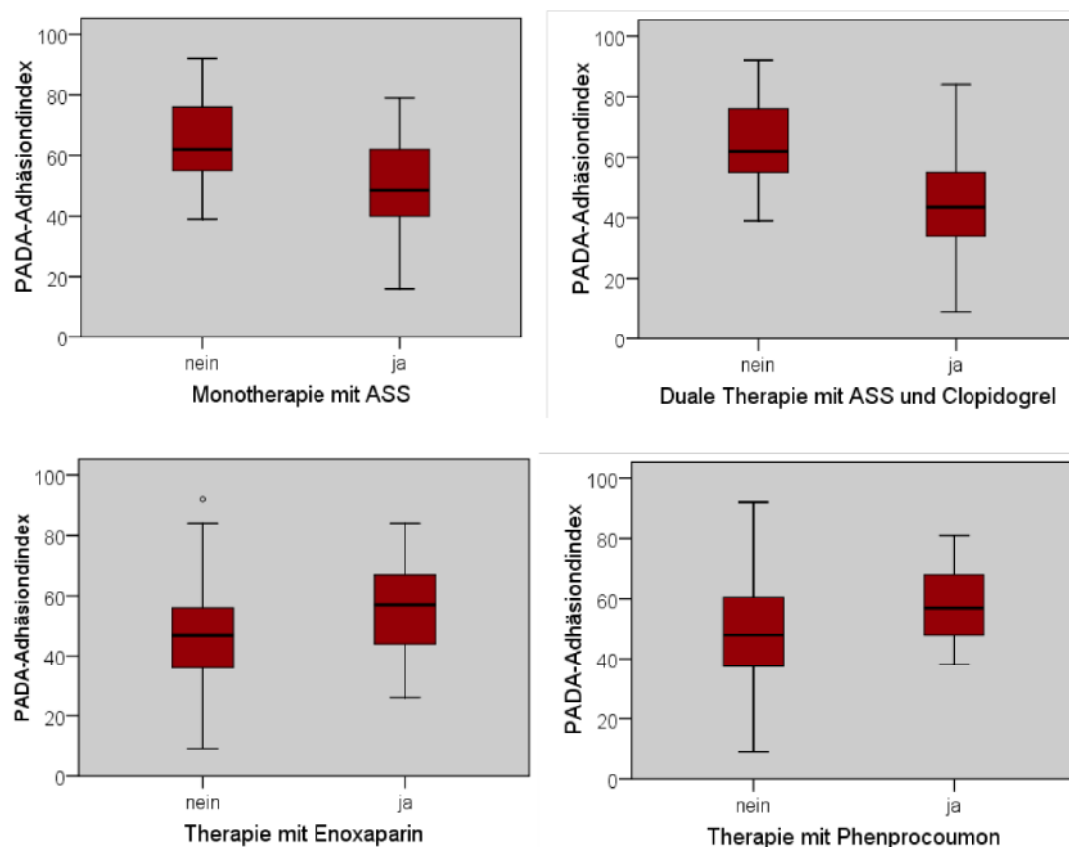


Abbildung 5.6: PADa-Adhäsionsindizes der Patienten in Abhängigkeit von der Medikation

### 5.2.3 Vergleich der Plättchenadhäsivität zwischen den beiden Studienpopulationen

Mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests bei fehlender Normalverteilung der Adhäsionsindizes in den beiden Kollektiven konnte gezeigt werden, dass ein signifikanter Unterschied der PADa-Adhäsionsindizes zwischen den Studienpopulationen vorlag ( $p = 0,010$ ). Hierbei ergab sich ein generell höherer Adhäsionsindex bei den Patienten (gemäß Tabelle 5.8 und Abb. 5.7).

Tabelle 5.8: Mann-Whitney-U-Test: Zusammenhang zwischen PADa-AI und Studienpopulation

Studien-population	N	Mittelwert und Standardabweichung	Median	Minimum	Maximum	Mann-Whitney-U-Test: Asymptotische Signifikanz
Probanden	100	44,42 ± 17,98	42,00	14	96	$p = 0,010^*$
Patienten	87	50,33 ± 17,64	49,00	9	92	

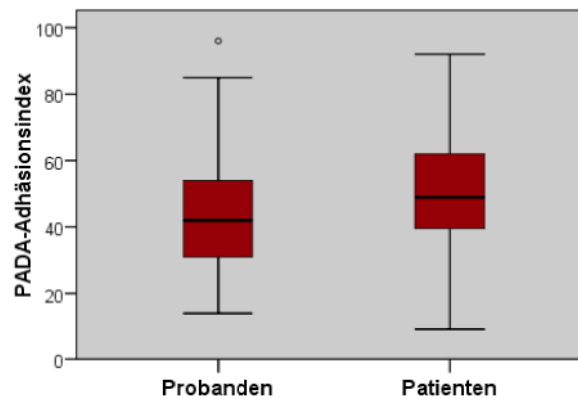


Abbildung 5.7: PADA-Adhäsionsindizes in Abhängigkeit von der Studienpopulation

Bei fehlender Gleichverteilung von Alter und Geschlecht zwischen den beiden Studienpopulationen wurden Einzelvergleiche mittels t-Test bzw. Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Es erfolgte eine Aufteilung der Gesamtstichprobe in jüngere und ältere weibliche bzw. männliche Probanden und Patienten. Die Grenze der beiden Altersklassen wurde anhand des Altersmedians bei 50 Jahren festgelegt. Hierbei konnte festgestellt werden, dass lediglich bei der Gegenüberstellung der jüngeren und älteren männlichen Studienteilnehmer ein signifikanter Unterschied des PADA-AI bestand (MW männlich<50 Jahre: 42,19 vs. MW männlich>50 Jahre: 49,90;  $p = 0,040$ ).

Mit dem Ziel der vergleichenden Plättchenfunktionsdiagnostik wurde im Folgenden der PADA-AI zwischen den gesunden Probanden und Subgruppen der Patienten mit relevanten Erkrankungen sowie kardiovaskulären Risikofaktoren verglichen (Tabelle 5.9). Im Falle der arteriellen Hypertonie erfolgte die Gegenüberstellung nur mit Probanden ohne diese Erkrankung ( $N = 94$ ; PADA-AI MW: 44,1; PADA-AI Median: 42,0).

Tabelle 5.9: Übersicht der PADA-Adhäsionsindizes in Abhängigkeit von ausgewählten Patientenmerkmalen (jeweils im Vergleich zu den gesunden Probanden)

Merkmal		N	Mittelwert und Standardabweichung	Median	Minimum	Maximum	Mann-Whitney-U-Test: asympt. Signifikanz
Gesunde Probanden		100	44,42 ± 17,98	41,88	14	96	-
Subgruppen der Patienten	Koronare Herzerkrankung	63	47,65 ± 17,03	47,00	16	92	p = 0,157
	Akutes Koronarsyndrom	31	45,84 ± 16,98	45,00	9	84	p = 0,431
	Aktuell STEMI	6	51,67 ± 23,18	50,50	21	78	p = 0,469
	Aktuell NSTEMI	15	48,87 ± 14,70	48,00	20	84	p = 0,187
	Instabile Angina pectoris	15	44,00 ± 16,74	48,00	9	77	p = 0,730
	Aktuell Intervention im Herzkatheter	35	45,69 ± 16,53	48,00	16	80	p = 0,442
	Stentstenose	8	51,25 ± 18,87	46,50	24	80	p = 0,342
	Stentthrombose	3	53,00 ± 21,93	44,00	37	78	p = 0,505
	Herzinsuffizienz	23	52,87 ± 14,82	50,00	26	81	p = 0,018*
	Herzrhythmusstörungen	30	58,03 ± 16,69	61,00	20	84	p = 0,000***
	Herzklappenvitien	21	62,71 ± 16,57	63,00	34	84	p = 0,000***
	Aktuell kardiale Dekompensation	13	58,00 ± 14,04	62,00	39	81	p = 0,005**
	Maligne Erkrankung	8	62,00 ± 16,20	62,00	32	84	p = 0,006**
	Chronische Niereninsuffizienz	24	56,46 ± 18,82	53,50	20	92	p = 0,004**
	pAVK	13	45,92 ± 14,71	44,00	24	80	p = 0,643
	Zustand nach Bypass-OP	10	47,30 ± 17,10	47,00	18	76	p = 0,432
	Zustand nach Myokardinfarkt	27	51,22 ± 18,79	50,00	16	84	p = 0,065
	Generell Thrombosen/Embolien	50	51,66 ± 18,20	49,50	16	84	p = 0,012*
	Arterielle Hypertonie	77	49,26 ± 17,89	48,00	9	92	p = 0,040*
	Diabetes mellitus	40	48,53 ± 19,02	44,00	18	92	p = 0,252
	Hyperlipidämie	45	46,71 ± 18,56	44,00	9	92	p = 0,373
	Adipositas	31	53,27 ± 20,38	50,50	20	92	p = 0,030*

Aus Tabelle 5.9 geht hervor, dass der PADA-Adhäsionsindex im Patientenkollektiv im Vergleich zu den gesunden Probanden beim Vorliegen folgender Diagnosen signifikant erhöht war (nach Abb. 5.8): Herzinsuffizienz ( $p = 0,018$ ), Herzrhythmusstörung ( $p = 0,000$ ), Herzklappenvitium ( $p = 0,000$ ), kardiale Dekompensation ( $p = 0,005$ ), maligne Erkrankung ( $p = 0,006$ ), chronische Niereninsuffizienz ( $p = 0,004$ ), generell Thrombosen ( $p = 0,012$ ), arterielle Hypertonie ( $0,040$ ) sowie Adipositas ( $p = 0,030$ ). Ein



analoger, jedoch nur tendenzieller Unterschied ergab sich bei Patienten mit Zustand nach Myokardinfarkt ( $p = 0,065$ ).

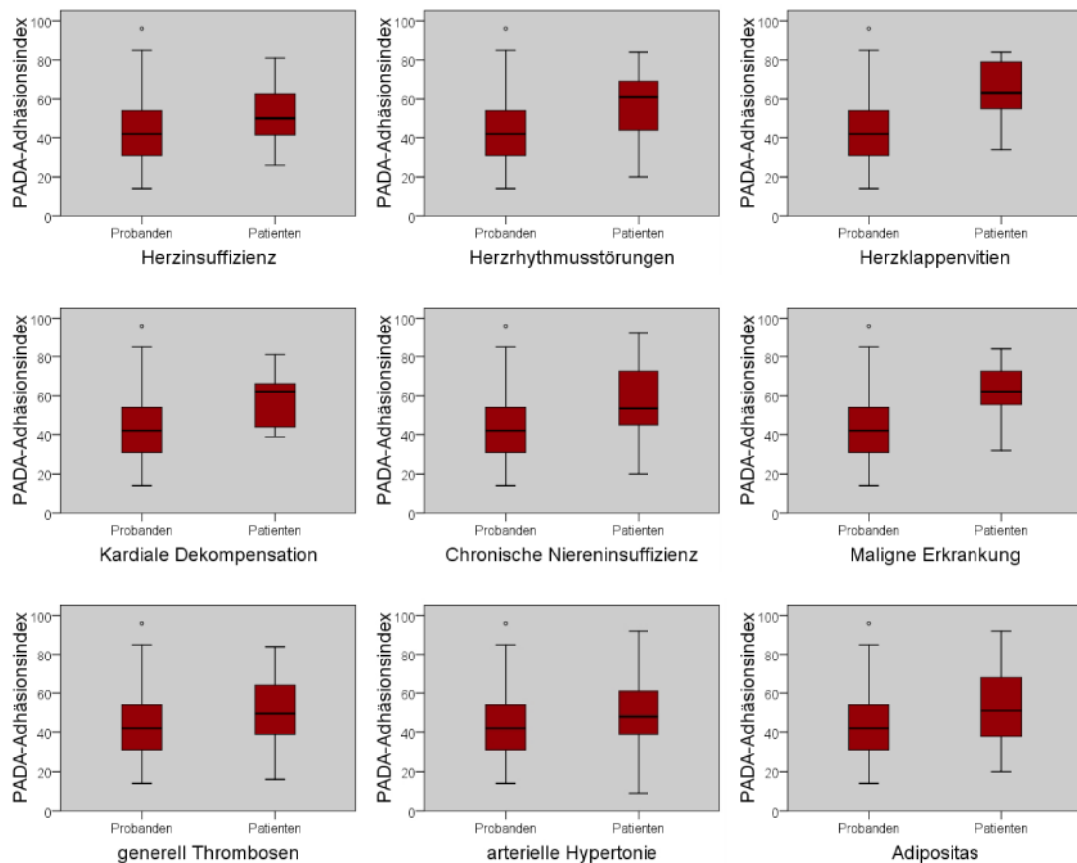


Abbildung 5.8: PADA-Adhäsionsindizes in Abhängigkeit von relevanten Erkrankungen

### 5.3 Plättchenuntersuchungen mit dem PADA-HIT

Zur Vervollständigung der Plättchenfunktionsdiagnostik wurde bei allen Probanden und Patienten der PADA-HIT durchgeführt, womit eine Erfassung von plättchengebundenen HIT-II-Antikörpern möglich war. Die entsprechenden Häufigkeiten wurden zwischen den beiden Studienpopulationen verglichen sowie auf Zusammenhänge mit einer Heparin-Behandlung untersucht.

### 5.3.1 Adhäsionsindizes im Heparinblut

Die Basis der HIT-II-Antikörper-Diagnostik des PADA-HIT ist die Gegenüberstellung der Adhäsionsindizes im Citrat- und Heparinblut. Die statistische Auswertung des AI im Citratblut erfolgte bereits im Gliederungspunkt 5.2. Die Ergebnisse der Analyse der Adhäsionsindizes im Heparinblut sind für beide Studienpopulationen in Tabelle 5.10 zusammengefasst. Der mittlere AI im Heparinblut lag bei den Probanden bei  $83 \pm 15,8$ , mit einem Median von 89, wohingegen der Mittelwert des AI bei den Patienten  $55 \pm 21,8$  betrug und der Median bei 54 lag. Die Verteilungen der Adhäsionsindizes sind in Abbildung 5.9 grafisch wiedergegeben.

Tabelle 5.10: Statistische Daten der Adhäsionsindizes im Heparinblut der Probanden und Patienten

	Probanden	Patienten
N	100	87
Mittelwert	82,89	55,11
Median	89,00	54,00
Standardabweichung	15,80	21,84
Maximum	98	93
Minimum	20	13

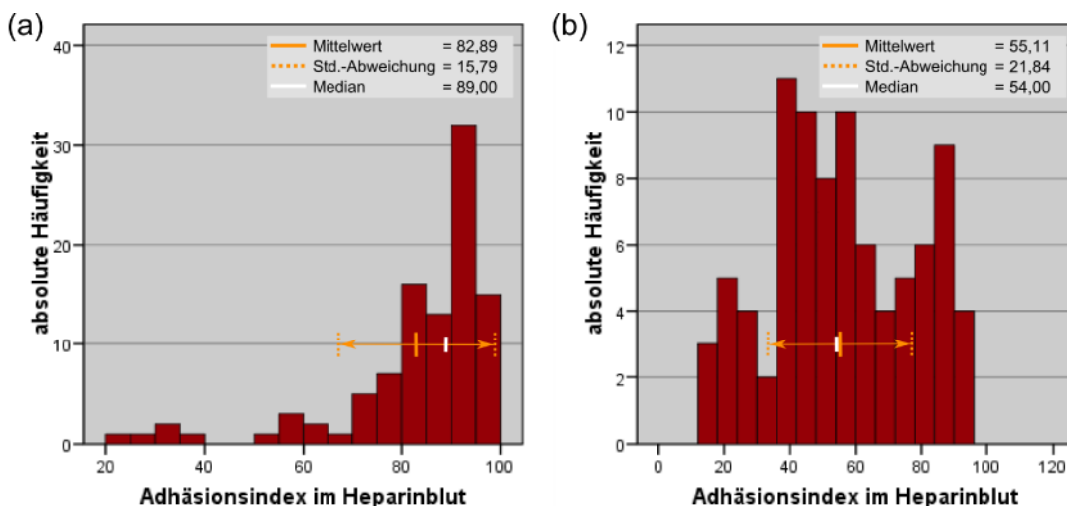


Abbildung 5.9: Adhäsionsindizes im Heparinblut der Probanden (a) und Patienten (b)

### 5.3.2 Häufigkeit von HIT-II-Antikörpern in den Studienkollektiven

Bei 15 der 100 Probanden wurden HIT-II-Antikörper diagnostiziert. Von diesen 15 Merkmalsträgern waren 12 (80 %) weiblich und 3 (20 %) männlich.

Im Unterschied zu den Probanden waren 60 der 87 Patienten HIT-II-positiv (69 %), wobei 20 weibliche (33,3 %) und 40 männliche (66,7 %) Merkmalsträger diagnostiziert wurden. Die dargelegten Häufigkeiten sind in der nachfolgenden Abbildung 5.10 dargestellt.

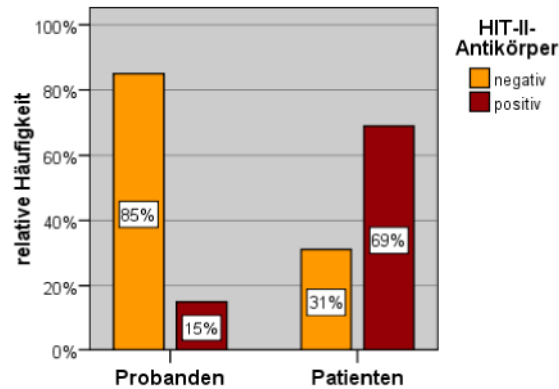


Abbildung 5.10: Häufigkeiten der PADA-HIT-Befunde in den Studienpopulationen

Beim Vergleich der Häufigkeiten von HIT-II-Antikörpern zwischen den beiden Studienkollektiven zeigte sich ein hochsignifikanter Unterschied ( $p = 0,000$ ).

Mit Hilfe einer binär logistischen Regression wurde anschließend der nach Alter und Geschlecht adjustierte Effekt der Kollektivzugehörigkeit auf die Häufigkeit von HIT-II-Antikörpern untersucht. Hierbei stellte sich ein hochsignifikanter Zusammenhang zwischen der Untersuchungspopulation und dem HIT-II-Antikörper-Status heraus ( $p = 0,000$ , Tabelle 5.11). Die Stärke des adjustierten Effekts der Kollektivzugehörigkeit wurde mit Hilfe des Odds Ratio angegeben. Hierbei hatten die Patienten gegenüber den Probanden ein um den Faktor  $OR = 9,976$  erhöhtes Risiko eines HIT-II-Antikörper-positiven Befundes. Bei der Regression zeigte sich zusätzlich ein signifikanter Zusammenhang zwischen Geschlecht und HIT-II-AK-Status ( $p = 0,036$ ), wobei die weiblichen gegenüber den männlichen Studienteilnehmern eine um den Faktor  $OR = 2,409$  erhöhte Chance eines HIT-II-positiven Befundes hatten.

Tabelle 5.11: Binär logistische Regression: HIT-II-Antikörper-positiv (OR = Odds Ratio)

Merkmal		Signifikanz	OR	95 %-Konfidenzintervall von OR	
				Unterer Wert	Oberer Wert
Geschlecht	weiblich	p = 0,036*	2,409	1,058	5,485
	männlich		1	-	-
Alter	-	p = 0,272	1,016	0,988	1,046
Studien-population	Patienten	p = 0,000***	9,976	2,818	35,323
	Probanden		1	-	-

### 5.3.3 Zusammenhang zwischen HIT-II-AK-Status und vorhergehender Heparin-Medikation

Zur Untersuchung des Zusammenhangs zwischen den Messergebnissen des PADA-HIT und einer Behandlung mit Heparin in beiden Studienkollektiven wurde der Chi-Quadrat-Test angewendet. Bei den gesunden Probanden wurde als Einflussvariable die Heparinmedikation in der Vergangenheit gewählt, die mittels Fragebogen erfasst wurde. Hierbei konnte ein signifikanter Zusammenhang mit positiven HIT-II-AK-Befunden festgestellt werden ( $p = 0,002$ , Abb. 5.11 (a)). Bei den Patienten konnte anhand der vorliegenden Krankenakten nur die aktuelle Behandlung mit Enoxaparin als Einflussvariable erfasst werden. Es fand sich diesbezüglich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zu einem HIT-II-positivem Befund ( $p = 0,054$ , Abb. 5.11 (b)), wobei sich jedoch eine eindeutige Tendenz zu häufigeren HIT-II-positiven Befunden unter einer Behandlung mit Enoxaparin aufzeigte.

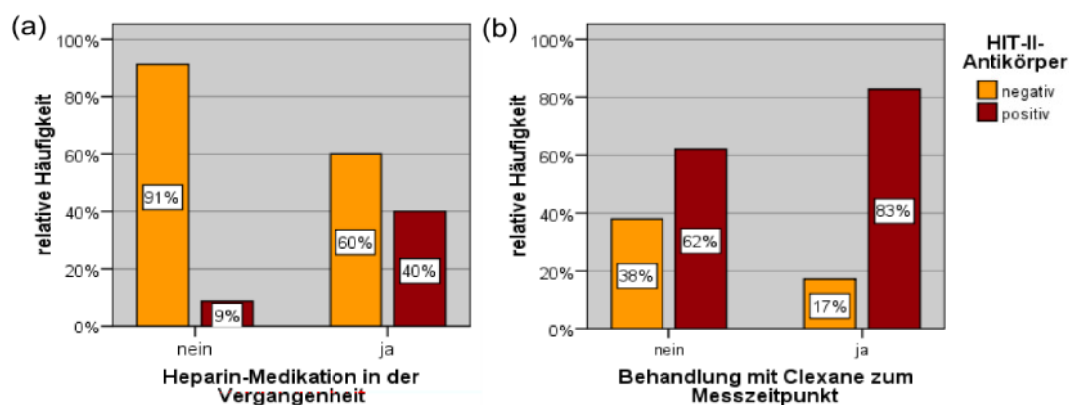


Abbildung 5.11: Häufigkeiten der PADA-HIT-Befunde in Abhängigkeit von einer Heparinmedikation der Probanden (a) bzw. einer aktuellen Behandlung der Patienten mit Enoxaparin (b)

## 5.4 ASS-Resistenz-Diagnostik mit dem PADA-RASS

Der Schwerpunkt dieser Arbeit war die Untersuchung der ASS-Resistenz bei gesunden Probanden im Vergleich zu kardiovaskulären Patienten. Hierbei wurde der PADA-RASS als eine neue Methode der ASS-Resistenz-Diagnostik verwendet und evaluiert.

### 5.4.1 ASS-Resistenz-Diagnostik bei den Probanden

#### 5.4.1.1 Adhäsionsindizes im Heparinblut ohne und mit ASS

Die Befundung des ASS-Resistenz-Profiles erfolgt durch Ermittlung der Adhäsionsindizes im Heparinblut, wobei jeweils Adhäsionsindizes ohne und mit ASS gegenübergestellt wurden (nach Punkt 4.3.5). Der mittlere AI ohne ASS lag bei den Probanden bei  $78 \pm 15$ , der Median befand sich bei 82. Der Mittelwert des AI mit ASS betrug  $79,73 \pm 15$ , mit einem Median von 84. Diese und weitere statistische Daten der Adhäsionsindizes sind in Tabelle 5.12 zusammenfassend aufgeführt. Abbildung 5.12 zeigt die Histogramme der Messergebnisse.

Tabelle 5.12: PADA-RASS Probanden: Statistische Daten der Adhäsionsindizes

	AI ohne ASS	AI mit ASS
N	100	100
Mittelwert	78,41	79,73
Median	82,00	84,00
Standardabweichung	15,40	14,54
Maximum	97	96
Minimum	24	20

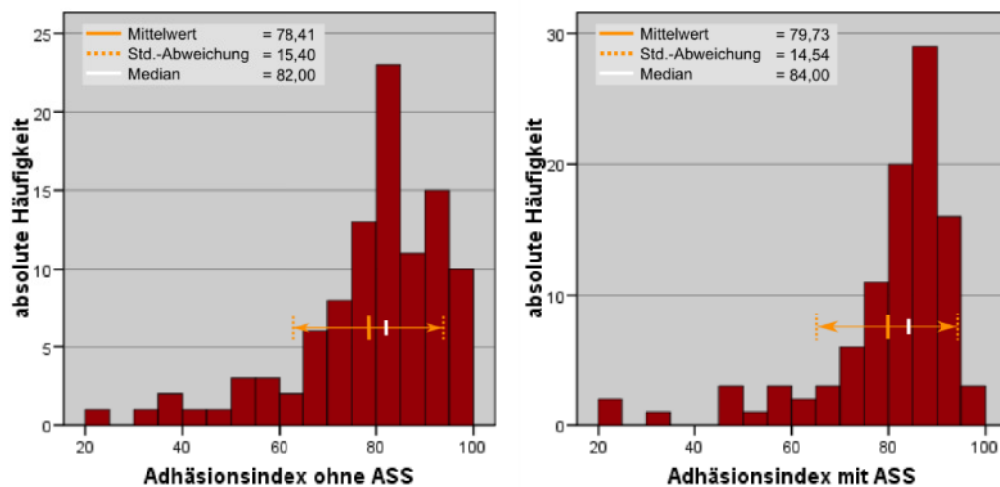


Abbildung 5.12: Adhäsionsindizes ohne und mit ASS der Probanden

#### 5.4.1.2 Profil und Häufigkeit der ASS-Resistenz bei den Probanden

Von den 100 Probanden waren 26 ASS-Responder und 36 ASS-Nonresponder, 38 Probanden zeigten eine PRASA (Abb. 5.13).

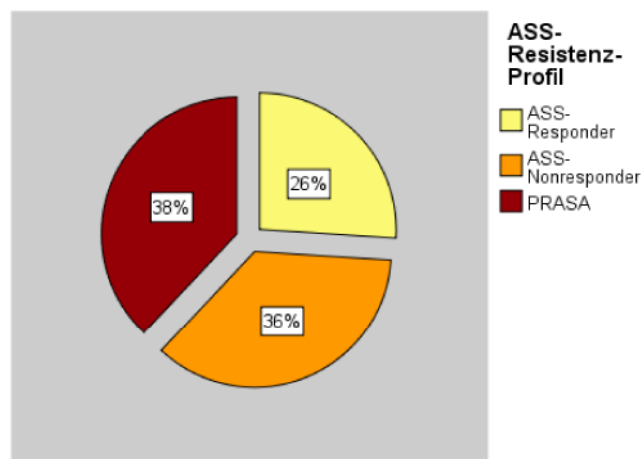


Abbildung 5.13: Häufigkeiten der PADA-RASS-Befunde bei den Probanden

#### 5.4.1.3 Zusammenhang zwischen ASS-Resistenz-Status und ausgewählten Parametern

Zur Beurteilung etwaiger Einflussfaktoren des ASS-Resistenz-Status der Probanden wurde auf Zusammenhänge mit ausgewählten Merkmalen geprüft.

Mittels der einfaktoriellen Varianzanalyse bzw. dem Kruskal-Wallis-Test wurde zunächst der Zusammenhang zwischen dem ASS-Resistenz-Status und dem Alter sowie den Blutbildparametern der Probanden untersucht (Tabelle 5.13).

Tabelle 5.13: ANOVA bzw. Kruskal-Wallis-Test: ASS-Resistenz-Profil der Probanden und metrisch skalierte Merkmale

Merkmal	ASS-Resistenz-Status	Mittelwert und Standardabweichung	Median	Minimum	Maximum	ANOVA: Signifikanz	Kruskal-Wallis-Test: asymptotische Signifikanz
Alter zum Messzeitpunkt [Jahre]	ASS-Responder	33,94 ± 13,52	28,29	21	66	-	p = 0,944
	ASS-Nonresponder	33,25 ± 14,42	25,72	19	68		
	PRASA	33,17 ± 13,23	28,12	19	70		
Hämatokrit im Heparinblut [%]	ASS-Responder	42,03 ± 4,35	42,40	29,5	50,4	p = 0,918	-
	ASS-Nonresponder	41,88 ± 3,43	41,30	35,0	49,9		
	PRASA	42,24 ± 3,64	42,00	35,8	50,0		
Erythrozytenzahl im Heparinblut [M/μl]	ASS-Responder	4,71 ± 0,60	4,66	2,96	5,81	-	p = 0,806
	ASS-Nonresponder	4,69 ± 0,47	4,58	3,99	5,76		
	PRASA	4,68 ± 0,47	4,61	3,91	5,62		
Leukozytenzahl im Heparinblut [k/μl]	ASS-Responder	6,30 ± 1,93	6,20	3,20	13,30	-	p = 0,960
	ASS-Nonresponder	6,19 ± 1,56	5,80	4,00	9,60		
	PRASA	6,09 ± 1,25	5,80	3,70	8,40		
Plättchenzahl im Heparinblut [k/μl]	ASS-Responder	221,19 ± 49,46	216,50	145	325	-	p = 0,092
	ASS-Nonresponder	225,64 ± 37,39	220,50	162	316		
	PRASA	244,31 ± 46,56	236,00	130	320		

Bezüglich Tabelle 5.13 ist auffällig, dass die Probanden mit einer PRASA tendenziell höhere Plättchenzahlen im Vergleich zu den ASS-Respondern und Nonrespondern zeigten ( $p = 0,092$ ).

Mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests wurde weiterhin der Zusammenhang zwischen dem ASS-Resistenz-Status und den mittels Fragebogen erfassten Merkmalen sowie dem Geschlecht untersucht. Hierbei konnten keine signifikanten Zusammenhänge ermittelt werden (Tabelle 5.14).

Tabelle 5.14: Chi-Quadrat-Test für die Kreuztabellen ASS-Resistenz-Profil der Probanden und ausgewählte Merkmale

Merkmal		N	ASS-Resistenz-Profil: ASS-Responder – ASS- Nonresponder- PRASA	Chi-Quadrat nach Pearson: Asymptotische Signifikanz (2-seitig)
Geschlecht	weiblich	55	20,0 % - 40,0 % - 40,0 %	p = 0,307
	männlich	45	33,3 % - 31,1 % - 35,6 %	
Arterielle Hypertonie	nein	94	25,5 % - 35,1 % - 39,4 %	p = 0,537
	ja	6	33,3 % - 50,0 % - 16,7 %	
Familiäre Gerinnungsstörungen	nein	94	26,6 % - 36,2 % - 37,2 %	p = 0,791
	ja	6	16,7 % - 33,3 % - 50,0 %	
Allergien	nein	57	24,6 % - 36,8 % - 38,6 %	p = 0,931
	ja	43	27,9 % - 34,9 % - 37,2 %	
Heparinmedikation in der Vergangenheit	nein	80	25,0 % - 36,3 % - 38,8 %	p = 0,896
	ja	20	30,0 % - 35,0 % - 35,0 %	
Dauermedikation	nein	61	29,5 % - 31,1 % - 39,3 %	p = 0,399
	ja	39	20,5 % - 43,6 % - 35,9 %	
Einnahme von hormonellen Kontrazeptiva	nein	24	16,7 % - 37,5 % - 45,8 %	p = 0,717
	ja	31	22,6 % - 41,9 % - 35,5 %	
Chronischer Nikotinabusus	nein	79	25,3 % - 39,2 % - 35,4 %	p = 0,404
	ja	21	28,6 % - 23,8 % - 47,6 %	
Besonderheiten zum Messzeitpunkt	nein	96	26,0 % - 36,5 % - 37,5 %	p = 0,861
	ja	4	25,0 % - 25,0 % - 50,0 %	



## 5.4.2 ASS-Resistenz-Diagnostik bei den Patienten

### 5.4.2.1 Adhäsionsindizes im Heparinblut ohne und mit ASS

Bei den Patienten lag der Mittelwert der Adhäsionsindizes ohne ASS bei  $55 \pm 20$  mit einem Median von 52. Der mittlere AI mit ASS betrug dagegen  $62 \pm 16$  mit einem Median von 61 (Tabelle 5.15, Abb. 5.14).

Tabelle 5.15: PADA-RASS Patienten: Statistische Daten der Adhäsionsindizes

	AI ohne ASS	AI mit ASS
N	87	87
Mittelwert	54,56	62,17
Median	52,00	61,00
Standardabweichung	20,20	16,22
Spannweite	78	65
Maximum	91	91
Minimum	13	26

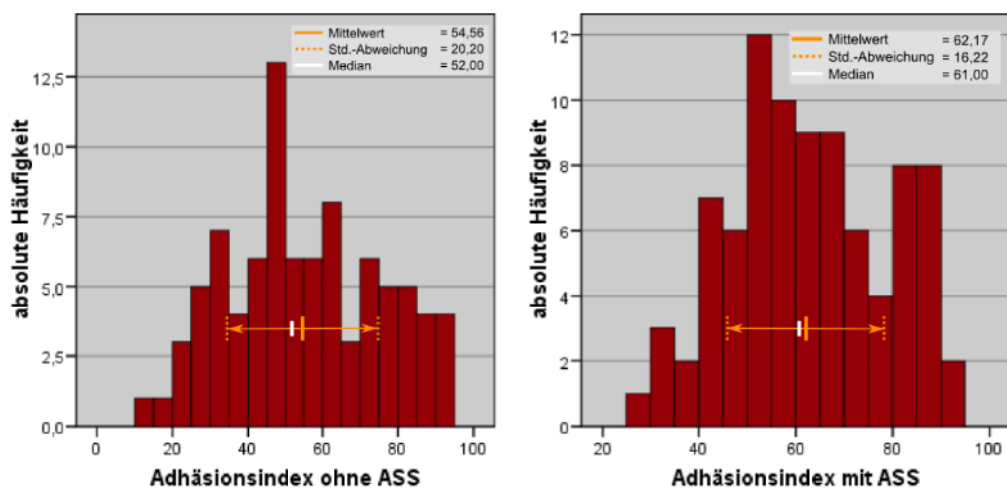


Abbildung 5.14: Adhäsionsindizes ohne und mit ASS der Patienten

#### 5.4.2.2 Profil und Häufigkeit der ASS-Resistenz bei den Patienten

Von den 87 kardiovaskulären Patienten wurden 13 ASS-Responder (14,9 %) und 23 ASS-Nonresponder (26,4 %) diagnostiziert. 51 Patienten (58,6 %) wiesen eine PRASA auf. Diese Häufigkeiten sind in Abbildung 5.15 als Kreisdiagramm dargestellt.

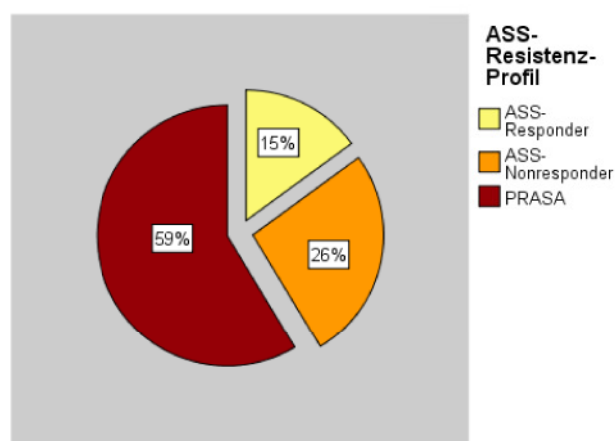


Abbildung 5.15: Häufigkeiten der Befunde des PADA-RASS bei den Patienten

#### 5.4.2.3 Zusammenhang zwischen ASS-Resistenz-Status und ausgewählten Parametern

Mit dem Ziel der Untersuchung etwaiger Einflussfaktoren auf das ASS-Resistenz-Profil der Patienten wurde dessen Abhängigkeit von ausgewählten Merkmalen analysiert. Mittels einfaktorieller ANOVA bzw. Kruskal-Wallis-Test erfolgte zunächst die Beurteilung der Korrelationen des ASS-Resistenz-Status mit metrisch skalierten Merkmalen (Tabelle 5.16), wobei sich kein Zusammenhang feststellen lies.

Tabelle 5.16: ANOVA bzw. Kruskal-Wallis-Test: ASS-Resistenz-Profil der Patienten und Alter sowie Blutbildparameter

Merkmal	ASS-Resistenz-Status	Mittelwert und Standardabweichung	Median	Minimum	Maximum	ANOVA: Signifikanz	Kruskal-Wallis-Test: asymptotische Signifikanz
Alter zum Messzeitpunkt [Jahre]	ASS-Responder	68,92 ± 7,47	69,22	53	80	-	p = 0,543
	ASS-Nonresponder	70,78 ± 12,05	75,32	47	86		
	PRASA	68,57 ± 10,93	69,46	39	91		
Hämatokrit im Heparinblut [%]	ASS-Responder	39,46 ± 5,04	40,50	29,1	46,2	p = 0,584	-
	ASS-Nonresponder	41,04 ± 7,18	39,40	28,9	58,7		
	PRASA	39,64 ± 5,54	40,30	27,8	48,7		

Erythrozytenzahl im Heparinblut [M/ $\mu$ l]	ASS-Responder	4,36 $\pm$ 0,71	4,37	2,85	5,36	p = 0,957	-
	ASS-Nonresponder	4,39 $\pm$ 0,85	4,26	3,10	6,55		
	PRASA	4,34 $\pm$ 0,68	4,39	3,10	5,78		
Leukozytenzahl im Heparinblut [k/ $\mu$ l]	ASS-Responder	7,99 $\pm$ 3,09	7,60	4,10	17,50	-	p = 0,370
	ASS-Nonresponder	8,13 $\pm$ 2,70	8,00	3,20	13,50		
	PRASA	7,39 $\pm$ 2,10	7,10	3,80	13,30		
Plättchenzahl im Heparinblut [k/ $\mu$ l]	ASS-Responder	186,62 $\pm$ 63,87	174,00	118	355	-	p = 0,974
	ASS-Nonresponder	188,52 $\pm$ 76,24	168,00	95	396		
	PRASA	193,24 $\pm$ 78,33	175,00	82	393		

Mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests wurde ferner der Zusammenhang des ASS-Resistenz-Profils mit dem Geschlecht, einer akuten Infektion, einem chronischen Nikotinabusus sowie den aktuellen Medikationen innerhalb der Patientenpopulation untersucht. Diesbezüglich konnten keine Assoziationen gefunden werden (Tabelle 5.17).

Tabelle 5.17: Chi-Quadrat-Test für die Kreuztabellen ASS-Resistenz-Profil der Patienten und Geschlecht, Infektion zum Messzeitpunkt, chronischer Nikotinabusus sowie Medikation

Merkmal		N	ASS-Resistenz-Profil: ASS-Responder - ASS-Nonresponder - PRASA	Chi-Quadrat nach Pearson: Asymptotische Signifikanz (2-seitig)
Geschlecht	weiblich	26	19,2 % - 23,1 % - 57,7 %	p = 0,733
	männlich	61	13,1 % - 27,9 % - 59,0 %	
Infektion zum Messzeitpunkt	nein	70	17,1 % - 24,3 % - 58,6 %	p = 0,409
	ja	17	5,9 % - 35,3 % - 58,8 %	
Aktuell chronischer Nikotinabusus	nein	71	14,1 % - 26,8 % - 59,2 %	p = 0,894
	ja	16	18,8 % - 25,0 % - 56,3 %	
Monotherapie mit ASS	nein	17	5,9 % - 47,1 % - 47,1 %	p = 0,176
	ja	32	21,9 % - 25,0 % - 53,1 %	
Duale Therapie mit ASS und Clopidogrel	nein	17	5,9 % - 47,1 % - 47,1 %	p = 0,083
	ja	38	13,2 % - 18,4 % - 68,4 %	
Enoxaparin-Medikation	nein	58	12,1 % - 22,4 % - 65,5 %	p = 0,179
	ja	29	20,7 % - 34,5 % - 44,8 %	
Phenprocoumon- Medikation	nein	72	13,9 % - 23,6 % - 62,5 %	p = 0,267
	ja	15	20,0 % - 40,0 % - 40,0 %	

### 5.4.3 Vergleich des Profils und der Häufigkeit der ASS-Resistenz zwischen den Studienkollektiven

Eine Hauptfragestellung der vorliegenden Arbeit beschäftigte sich mit dem etwaigen Unterschied des ASS-Resistenz-Profiles zwischen gesunden Probanden und kardiovaskulären Patienten. Dementsprechend erfolgte ein Vergleich der Profile der beiden Studienpopulationen mittels Chi-Quadrat-Test. Als Resultat zeigte sich ein signifikanter Unterschied ( $p = 0,016$ , Tabelle 5.18).

Tabelle 5.18: Chi-Quadrat-Test für die Kreuztabelle ASS-Resistenz-Profil und Studienpopulation

Studien-population	N	ASS-Resistenz-Profil			Chi-Quadrat nach Pearson: Asymptotische Signifikanz (2-seitig)
		ASS-Responder	ASS-Nonresponder	PRASA	
Probanden	100	26 (26,0 %)	36 (36,0 %)	38 (38,0 %)	$p = 0,016^*$
Patienten	87	13 (14,9 %)	23 (26,4 %)	51 (58,6 %)	

Mittels einer multinomial logistischen Regression wurde anschließend der nach Alter und Geschlecht adjustierte Effekt der Kollektivzugehörigkeit auf das ASS-Resistenz-Profil untersucht. Als Referenzkategorie wurde die PRASA gewählt. Hierbei zeigte sich bei der Gegenüberstellung der PRASA mit den ASS-Respondern ein tendenzieller, jedoch nicht signifikanter Einfluss der Gruppenzugehörigkeit ( $p = 0,077$ ). Die Stärke des adjustierten Effekts wurde mit Hilfe des Odds Ratio angegeben, wobei die Patienten gegenüber den gesunden Probanden ein 3,5-faches Risiko für eine PRASA im Vergleich zur ASS-Response aufwiesen. Bei der Gegenüberstellung der PRASA mit den ASS-Nonrespondern ließ sich kein signifikanter Einfluss der Kollektivzugehörigkeit auf die PRASA nachweisen ( $p = 0,112$ ). Die detaillierten Resultate der Regressionanalyse sind in den nachfolgenden Tabellen 5.19 und 5.20 zusammenfassend dargelegt.

Tabelle 5.19: Multinomial logistische Regression: PRASA gegen ASS-Responder

Merkmal		Signifikanz	OR	95 %-Konfidenzintervall von OR	
				Unterer Wert	Oberer Wert
Geschlecht	weiblich	$p = 0,473$	1,343	0,600	3,005
	männlich		1	-	-
Alter	-	$p = 0,750$	1,005	0,974	1,037
Studien-population	Patienten	$p = 0,077$	3,465	0,875	13,730
	Probanden		1	-	-

Tabelle 5.20: Multinomial logistische Regression: PRASA gegen ASS-Nonresponder

Merkmal		Signifikanz	OR	95 %-Konfidenzintervall von OR	
				Unterer Wert	Oberer Wert
Geschlecht	weiblich	p = 0,902	0,957	0,478	1,917
	männlich		1	-	-
Alter	-	p = 0,619	1,007	0,980	1,035
Studien-population	Patienten	p = 0,112	2,665	0,794	8,943
	Probanden		1	-	-

Um beschreiben zu können, welche der erfassten Erkrankungen und Risikofaktoren der Patienten mit signifikanten Unterschieden des ASS-Resistenz-Profiles im Vergleich zu den gesunden Probanden assoziiert waren, wurden die entsprechenden Patientensubgruppen mit den Probanden verglichen (Tabelle 5.21). Bezüglich der Einflussgröße arterielle Hypertonie erfolgte die Gegenüberstellung nur mit denjenigen Probanden, die nicht an einer Hypertonie litten (N = 94, ASS-Resistenz-Profil: 25,5 % ASS-Responder, 35,1 % ASS-Nonresponder, 39,4 % PRASA).

Tabelle 5.21: Chi-Quadrat-Test für die Kreuztabelle ASS-Resistenzprofil und relevante Merkmale (jeweils im Vergleich zu den gesunden Probanden)

Merkmal		N	ASS-Resistenz-Profil: ASS-Responder - ASS-Nonresponder - PRASA	Chi-Quadrat nach Pearson: Asymptotische Signifikanz (2-seitig)
Gesunde Probanden		100	26,0 % - 36,0 % - 38,0 %	-
Subgruppen der Patienten	Koronare Herzerkrankung	63	11,1 % - 27,0 % - 61,9 %	p = 0,007**
	Akutes Koronarsyndrom	31	12,9 % - 19,4 % - 67,7 %	p = 0,015*
	Aktuell STEMI	6	16,7 % - 33,3 % - 50,0 %	p = 0,812
	Aktuell NSTEMI	15	20,0 % - 13,3 % - 66,7 %	p = 0,092
	Instabile Angina pectoris	15	0,0 % - 20,0 % - 80,0 %	p = 0,006**
	Aktuell Intervention im Herzkatheter	35	11,4 % - 17,1 % - 71,4 %	p = 0,003**
	Stentstenose	8	25,0 % - 25,0 % - 50,0 %	p = 0,766
	Stentthrombose	3	33,3 % - 66,7 % - 0,0 %	p = 0,379
	Herzinsuffizienz	23	8,7 % - 21,7 % - 69,6 %	p = 0,020*
	Herzrhythmusstörungen	30	23,3 % - 33,3 % - 43,3 %	p = 0,870
	Herzklappenvitien	21	19,0 % - 52,4 % - 28,6 %	p = 0,375
	Aktuell kardiale Dekompensation	13	30,8 % - 38,5 % - 30,8 %	p = 0,870
	Maligne Erkrankung	8	37,5 % - 37,5 % - 25,0 %	p = 0,702

Subgruppen der Patienten	Chronische Niereninsuffizienz	24	16,7 % - 45,8 % - 37,5 %	p = 0,551
	pAVK	13	7,7 % - 23,1 % - 69,2 %	p = 0,088
	Zustand nach Bypass-OP	10	20,0 % - 30,0 % - 50,0 %	p = 0,757
	Zustand nach Myokardinfarkt	27	22,2 % - 29,6 % - 48,1 %	p = 0,633
	Generell Thrombosen/Embolien	50	18,0 % - 28,0 % - 54,0 %	p = 0,172
	Arterielle Hypertonie	77	15,6 % - 27,3 % - 57,1 %	p = 0,060
	Diabetes mellitus	40	10,0 % - 27,5 % - 62,5 %	p = 0,020*
	Hyperlipidämie	45	17,8 % - 22,2 % - 60,0 %	p = 0,047*
	Adipositas	31	16,1 % - 38,7 % - 45,2 %	p = 0,515

Die Tabelle 5.21 zeigt, dass es im Vergleich zu den Probanden zu einem signifikant weniger häufigen Auftreten einer ASS-Response sowie einem signifikant häufigeren Vorkommen einer PRASA bei Patienten mit den folgenden Diagnosen und kardiovaskulären Risikofaktoren im Vergleich zu den Probanden kam: KHK ( $p = 0,007$ ), akutes Koronarsyndrom ( $p = 0,015$ ), speziell instabile Angina pectoris ( $p = 0,006$ ), Herzinsuffizienz ( $p = 0,020$ ), Diabetes mellitus ( $p = 0,020$ ) und Hyperlipidämie ( $p = 0,047$ ). Analoge Tendenzen ließen sich für die arterielle Hypertonie ( $p = 0,060$ ) sowie die Diagnosen NSTEMI ( $p = 0,092$ ) und pAVK ( $p = 0,088$ ) aufweisen. Weiterhin zeigten Patienten nach einer aktuellen Intervention im Herzkatheter ( $p = 0,003$ ) signifikant häufiger eine ASS-Nonresponse bzw. eine PRASA. Die statistisch signifikanten Ergebnisse sind in Abbildung 5.16 nochmals grafisch veranschaulicht.

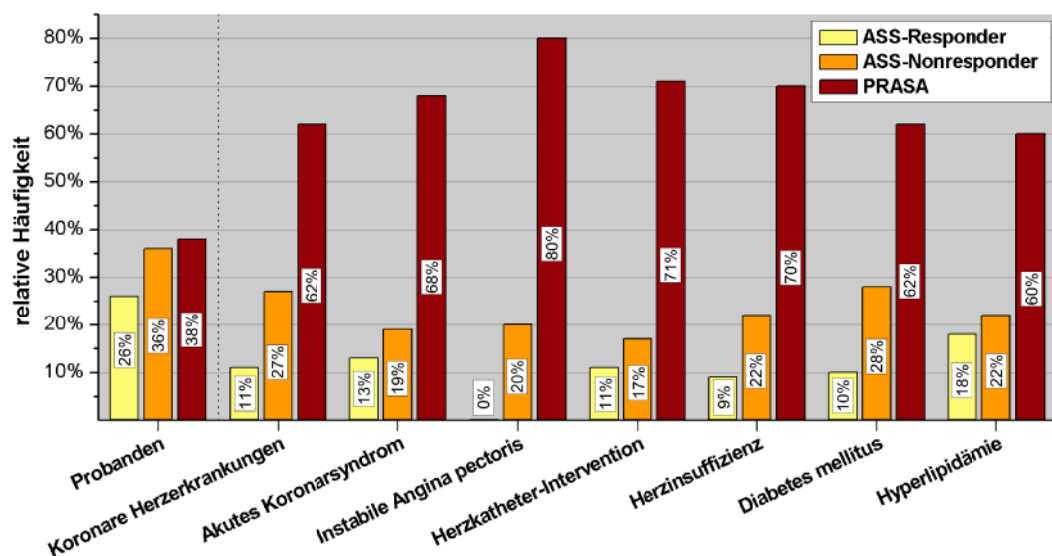


Abbildung 5.16: ASS-Resistenz-Profil relevanter Subgruppen der Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden

### 5.4.4 Evaluation der PADA-RASS-Methode

Im Zuge dieser Arbeit wurde eine neue Methodik zur Diagnostik der ASS-Resistenz eingeführt. Aufgrund dieser Tatsache erfolgte eine Evaluation der Methode sowohl bezüglich etwaiger Einflussfaktoren der Messergebnisse als auch bezüglich der Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit mit dem am häufigsten angewandten Plättchenfunktionstest zur ASS-Resistenz-Diagnostik.

#### 5.4.4.1 Evaluation des Zeitpunktes der Messung als möglicher Einflussfaktor des Messergebnisses

Eine initiale Analyse zur Evaluation des PADA-RASS war die Beurteilung des Einflusses von tageszeitlichen und im Falle der Probanden zusätzlich von jahreszeitlichen sowie monatlichen Schwankungen auf das Messergebnis. Hierbei konnte kein Zusammenhang zwischen den Parametern und dem ASS-Resistenz-Profil gefunden werden (Tabelle 5.22 und 5.23).

Tabelle 5.22: Kruskal-Wallis-Test: ASS-Resistenz-Status und Uhrzeit sowie Monat der Messung

Merkmal		N	Mittelwert und Standardabweichung	Median	Minimum-Maximum	Kruskal-Wallis-Test: asymptotische Signifikanz
Uhrzeit der Blutentnahme Probanden	ASS-Responder	24	12:44 ± 2,48h	12:47	8:24 – 18:34	p = 0,516
	ASS-Nonresponder	36	12:53 ± 3,07h	12:15	8:35 – 18:38	
	PRASA	37	12:18 ± 3,19h	11:40	7:45 – 18:34	
Uhrzeit der Blutentnahme Patienten	ASS-Responder	12	9:14 ± 1,43h	8:17	7:40 – 12:10	p = 0,907
	ASS-Nonresponder	23	9:50 ± 2,12h	9:20	7:30 – 14:25	
	PRASA	51	9:37 ± 2,04h	8:24	7:30 – 14:30	
Monat der Messung Probanden	ASS-Responder	26	6,77 ± 2,55	7	2 - 11	p = 0,559
	ASS-Nonresponder	36	6,91 ± 2,63	7	2 - 11	
	PRASA	38	6,34 ± 2,91	7	2 - 12	

Tabelle 5.23: Chi-Quadrat-Test für die Kreuztabelle ASS-Resistenz-Profil der Probanden und Jahreszeit der Messung

Jahreszeit der Messung der Probanden	N	ASS-Resistenz-Status: ASS-Responder - ASS-Nonresponder - PRASA	Chi-Quadrat nach Pearson: Asymptotische Signifikanz (2-seitig)
Frühling	19	3 (15,8 %) – 7 (36,8 %) – 9 (47,4 %)	p = 0,475
Sommer	17	7 (41,2 %) – 3 (17,6 %) – 7 (41,2 %)	
Herbst	54	13 (24,1 %) – 23 (42,6 %) – 18 (33,3 %)	
Winter	10	3 (30,0 %) – 3 (30,0 %) – 4 (40,0 %)	
Gesamt	100	26 (26,0 %) – 36 (36,0 %) – 38 (38,0 %)	

#### 5.4.4.2 Evaluation der Reproduzierbarkeit der PADA-RASS-Methode

Bei zehn Probanden erfolgte eine parallele Erhebung des ASS-Resistenz-Status durch zwei Untersucher. Um die Reliabilität des PADA-RASS beurteilen zu können, wurden die vorliegenden Messpaare in Tabelle 5.24 wiedergegeben und die zufallskorrigierte Übereinstimmung in Form des Cohen's Kappa berechnet.

Tabelle 5.24: Kreuztabelle zur Bewertung der Reliabilität der PADA-RASS-Befunde (übereinstimmende Befunde wurden grau hinterlegt)

		Zweite Befundung			Gesamt
		ASS-Responder	ASS-Nonresponder	PRASA	
Erste Befundung	ASS-Responder	2	1	0	3 (30,0 %)
	ASS-Nonresponder	0	2	0	2 (20,0 %)
	PRASA	0	1	4	5 (50,0 %)
Gesamt		2 (20,0 %)	4 (40,0 %)	4 (40,0 %)	10 (100,0 %)

Anhand Tabelle 5.24 lässt sich erkennen, dass übereinstimmende Messresultate bei acht von zehn Probanden vorlagen. Bei den beiden inkonsistenten Befunden zeigte sich eine Abweichung der Diagnosen vom ASS-Nonresponder zur PRASA bzw. vom ASS-Nonresponder zum ASS-Responder. Das Maß der Übereinstimmung (Cohen's Kappa) betrug 0,697 ( $p = 0,001$ ), dies entspricht einer guten Übereinstimmung.

Ergänzend zu diesen Auswertungen wurden mit Hilfe der Differenzen der Adhäsionsindizes ohne und mit ASS ( $AI_{\text{ohne ASS}} - AI_{\text{mit ASS}}$ ) quantitative Messwertpaare erstellt. Diese wurden in einem Punktediagramm in ihrer Relation zur Winkelhalbierenden dargestellt (Abbildung 5.17). Dabei gilt, dass eine vollkommene Konsistenz der beiden Untersucher dann gegeben wäre, wenn alle Messwertpaare genau



auf der Winkelhalbierenden liegen würden.

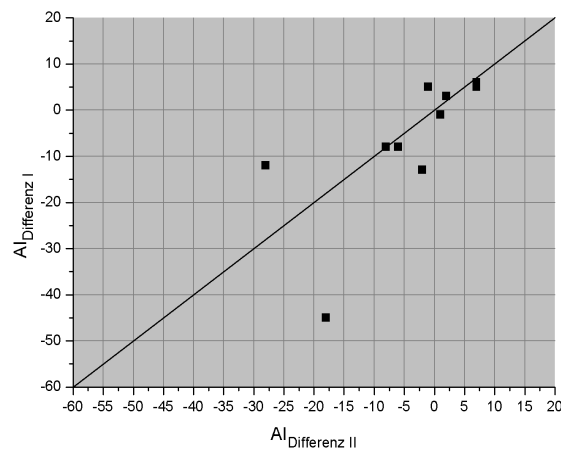


Abbildung 5.17: Darstellung der Messergebnisse beider Untersucher (AI Differenz I und II) in ihrer Relation zur Winkelhalbierenden. Hierbei entspricht eine geringe Streuung der Wertepaare um die Winkelhalbierende einer guten Konsistenz

#### 5.4.4.3 Evaluation der Vergleichbarkeit der Messergebnisse des PADA-RASS mit denen des PFA-100®

Bei 25 Probanden erfolgte eine vergleichende Messung der ASS-Resistenz mit dem PFA-100®. Von diesen waren mittels PFA-100® siebzehn Probanden ASS-resistent (68 %), so dass acht ASS-Responder waren (32 %). Bei den Messungen mit dem PADA-RASS waren vier Probanden ASS-Responder (16 %) und zwölf ASS-Nonresponder (48 %), neun Probanden zeigten eine PRASA (36 %). Die dargelegten Häufigkeiten wurden in Abbildung 5.18 veranschaulichend dargestellt.

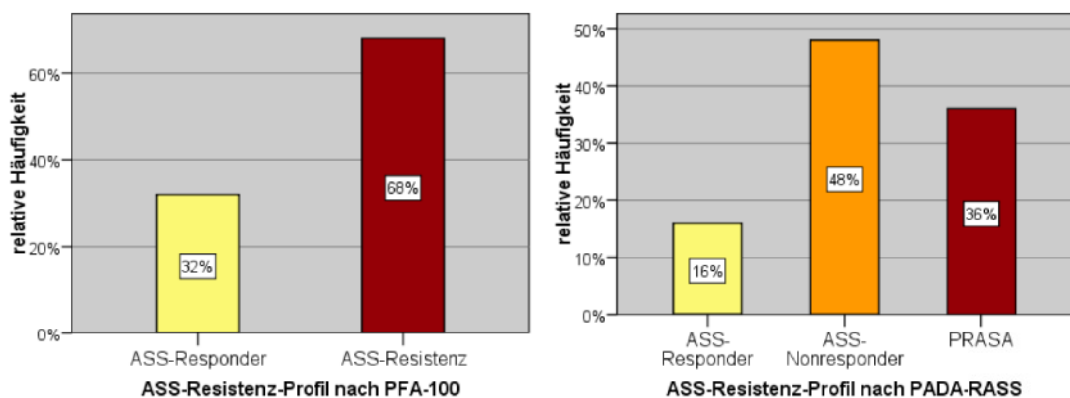


Abbildung 5.18: Häufigkeiten der ASS-Resistenz ermittelt mit dem PFA-100® sowie dem PADA-RASS

Von den vier ASS-Respondern, die mittels PADA-RASS ermittelt wurden, war ein Proband ebenfalls bei der Untersuchung mit dem PFA-100® ASS-Responder. Von den siebzehn ASS-resistenten Probanden des PFA-100® wurden mittels PADA-RASS acht ASS-Nonresponder und sechs Probanden mit einer PRASA diagnostiziert.

Um eine bessere Vergleichbarkeit zu ermöglichen, wurden die beiden Resistenzgruppen des PADA-RASS (ASS-Nonresponse und PRASA) zur Obergruppe der ASS-Resistenz zusammengefasst. Die dadurch entstandenen Messpaare sind in Tabelle 5.25 aufgeführt.

Tabelle 5.25: Kreuztabelle zur Bewertung der Vergleichbarkeit des PADA-RASS mit dem PFA-100® (übereinstimmende Befunde wurden grau hinterlegt)

		Befundung mittels PFA-100®		Gesamt
		ASS-Responder	ASS-Resistenz	
Befundung mittels PADA- RASS	ASS-Responder	1	3	4 (16,0 %)
	ASS-Resistenz	7	14	21 (84,0 %)
Gesamt		8 (32,0 %)	17 (68,0 %)	25 (100,0 %)

Tabelle 5.25 zeigt, dass bei 15 von 25 Probanden ein übereinstimmender Befund ermittelt wurde. Das zufallskorrigierte Maß der Übereinstimmung (Cohen's Kappa) lag bei -0,059 ( $p = 0,743$ ), dies entspricht einer schlechten Konsistenz.

#### 5.4.4.4 Modifizierung des PFA-100® entsprechend des Testprinzips des PADA-RASS

Die Modifizierungen des PFA-100® beinhalteten die Verwendung von heparinantikoaguliertem Vollblut sowie die in-vitro-Zugabe von ASS im Anschluss an eine Basismessung ohne ASS. Folglich ließ sich eine verbesserte Vergleichbarkeit mit dem PADA-RASS erzielen. Von den siebzehn Probanden, bei denen diese Messungen durchgeführt wurden, waren mittels modifiziertem PFA-100® elf Probanden ASS-Responder (64,7 %) und zwei ASS-Nonresponder (11,8 %), bei vier der siebzehn Probanden (23,5 %) wurde eine PRASA diagnostiziert. Mittels PADA-RASS waren drei Probanden ASS-Responder (17,6 %) und sieben ASS-Nonresponder (41,2 %), weitere sieben Probanden zeigten eine PRASA (41,2 %). Diese Ergebnisse sind in Abbildung 5.19 dargestellt.

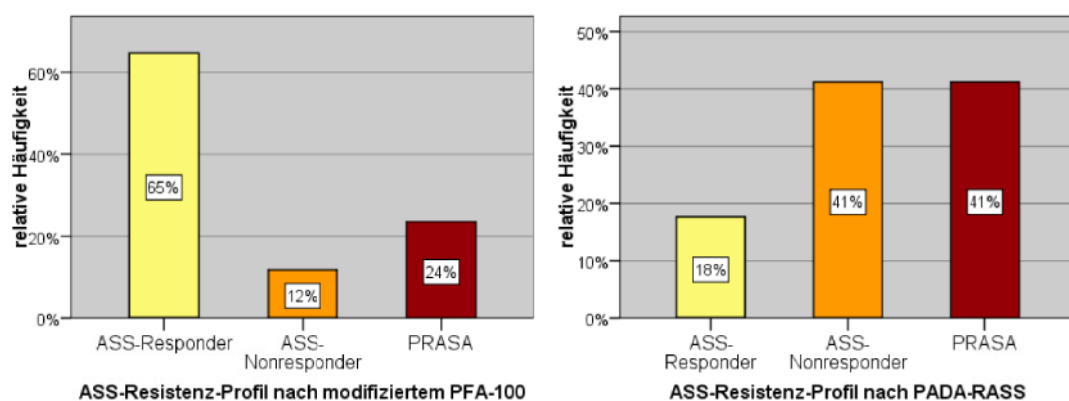


Abbildung 5.19: Häufigkeiten der ASS-Resistenz ermittelt mit dem modifizierten PFA-100® sowie dem PADA-RASS

In Tabelle 5.26 sind die Befunde der beiden Testverfahren in einer Kreuztabelle aufgeführt.

Tabelle 5.26: Kreuztabelle zur Bewertung der Vergleichbarkeit des PADA-RASS mit dem modifizierten PFA-100® (übereinstimmende Befunde wurden grau hinterlegt)

		Befundung mit dem PFA-100®			Gesamt
		ASS-Responder	ASS-Nonresponder	PRASA	
Befundung mit dem PADA-RASS	ASS-Responder	3	0	0	3 (17,6 %)
	ASS-Nonresponder	3	2	2	7 (41,2 %)
	PRASA	5	0	2	7 (41,2 %)
Gesamt		11 (64,7 %)	2 (11,8 %)	4 (23,5 %)	17 (100,0 %)

In Tabelle 5.26 ist ersichtlich, dass es beim Vergleich des PADA-RASS mit dem modifizierten PFA-100®-Verfahren sieben übereinstimmende Befunde gab. Bei den acht inkonsistenten Befunden zeigten sich drei Abweichungen der Diagnosen vom ASS-Responder gemäß PFA-100® zum ASS-Nonresponder nach PADA-RASS sowie fünf Abweichungen vom ASS-Responder gemäß PFA-100® zur PRASA nach PADA-RASS. Das berechnete Cohen's Kappa betrug 0,206 ( $p = 0,099$ ), dies entspricht einer mäßigen Übereinstimmung.

#### **5.4.4.5 Messtechnische Probleme**

Der Adhäsionsindex des PADA-HIT-Messansatzes im Heparinblut gleicht in der Regel aufgrund des annähernd identischen Prozederes dem des PADA-RASS-Messansatzes ohne ASS. Bei einigen Probanden und Patienten kam es jedoch zu einem Anstieg der freien Plättchen in der Partikelprobe des Messansatzes ohne ASS, das heißt, dass in diesen Proben scheinbar weniger Plättchen über Fibrinogen an die Polymerpartikel gebunden wurden. Dies resultierte in einem Abfall des AI ohne ASS im Vergleich zum AI im Heparinblut. Ein stark erniedrigter AI im Messansatz ohne ASS verfälscht jedoch die Gegenüberstellung der Adhäsionsindizes ohne und mit ASS und folglich die Diagnostik des ASS-Resistenz-Status. Um eine Verzerrung des Gesamtergebnisses zu vermeiden, wurden die entsprechenden Probanden und Patienten bei einem Abfall des AI ohne ASS um mehr als 30 % des AI im Heparinblut von den Auswertungen ausgeschlossen. Dies traf bei 17 Probanden (14,5 %) und 10 Patienten (10,3 %) zu. Eine solche Reaktion ließ sich bei den gleichen Probanden auch nach wiederholter Messung feststellen.

## 6 Diskussion

### 6.1 Diskussion der Konzeption der Studie

Das wesentliche Ziel der vorliegenden Studie war es, die Häufigkeit und das Profil der ASS-Resistenz bei kardiovaskulären Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden mit Hilfe des PADA-RASS zu ermitteln. Neben dieser zentralen Zielsetzung waren weitere bedeutende Fragestellungen, ob sich die Prävalenzen der ASS-Resistenz in den Studienkollektiven signifikant voneinander unterscheiden und inwiefern bestimmte Nebenerkrankungen bzw. kardiovaskuläre Risikofaktoren der Patienten mit einer veränderten Häufigkeit im Vergleich zu den gesunden Probanden assoziiert sind. Zur Vervollständigung der Plättchenfunktionsdiagnostik wurden zusätzlich bei allen Patienten die Plättchenadhäsivität mittels PADA und die plättchengebundenen HIT-II-Antikörper mittels PADA-HIT bestimmt.

Insgesamt wurden 187 Studienteilnehmer eingeschlossen, so dass eine gute statistische Aussagekraft erreicht werden konnte. Der weitestgehende Verzicht auf selektierende Ein- und Ausschlusskriterien geschah mit dem Ziel einer repräsentativen Wiedergabe des kardiologischen Patientengutes der KIM I Jena sowie einer realitätsnahen Erhebung der Häufigkeit der ASS-Resistenz. Die Rekrutierung der Probanden und Patienten erfolgte unabhängig von Alter und Geschlecht, so dass die Kollektive nicht gematched sind. Angesichts des Ziels der vergleichenden Untersuchung stellt diese Herangehensweise, vor allem hinsichtlich des deutlichen Unterschiedes des Altersmedians (27,4 vs. 70,0 Jahre), einen zu berücksichtigenden Kritikpunkt der Arbeit dar. Aus diesem Grund erfolgte bei der Auswertung der Hauptergebnisse die nach Alter und Geschlecht adjustierte Regression. In sich anschließenden Untersuchungen mit dem Ziel der vergleichenden ASS-Resistenz-Diagnostik wäre ein Matching der Studienkollektive trotz des hohen Aufwands eine erstrebenswerte Vorgehensweise zur Vervollständigung der bisherigen Erkenntnisse.

Bei der Interpretation der ermittelten Resultate dieser Arbeit ist darüber hinaus zu beachten, dass eine neue, nicht validierte Methodik zur Erfassung der ASS-Resistenz verwendet wurde. Vor dem Hintergrund der aktuellen Literatur, die belegt, dass bisher kein geeignetes Verfahren zur ASS-Resistenz-Diagnostik etabliert ist und die bereits

angewandten Methoden eine schlechte Korrelation und Reproduzierbarkeit zeigen (Frelinger et al. 2008, Harrison et al. 2008, Lordkipanidze et al. 2007), stellt dies jedoch auch den innovativen Ansatz der vorliegenden Studie dar. Zusätzlich erfolgten Vergleichsmessungen mit PFA-100® als einer der häufigsten angewandten Plättchenfunktionstests zur ASS-Resistenz-Diagnostik. Eine weitere mögliche Einschränkung der Untersuchung könnte die Erfassung des ASS-Resistenz-Status zu nur einem Zeitpunkt sein (wobei hierbei jedoch jeweils eine Doppelmessung erfolgte), da es sich bei der ASS-Resistenz nach Meinung einiger Autoren um einen im Verlauf variablen Wert handeln könnte (Hankey und Eikelboom 2006). Aufgrund der Größe der Studienpopulation wurde letztendlich auf eine Verlaufsmessung verzichtet und stattdessen zusätzlich die Reproduzierbarkeit der angewandten Methodik überprüft.

## **6.2 Diskussion der Methodik des PADA-RASS**

Der PADA-RASS arbeitet im Gegensatz zu den geläufigen Diagnostikmethoden der ASS-Resistenz mit heparinantikoaguliertem Vollblut. Dies hat den Vorteil, dass hämostatische Faktoren wie beispielsweise Interaktionen mit Erythrozyten und Makrophagen berücksichtigt werden. Eine Vielzahl von Studien deuten auf einen Einfluss dieser Faktoren auf das Entstehen der ASS-Resistenz hin und deren fehlende Berücksichtigung stellt nach Ansicht einiger Autoren eine Einschränkung anderer Methoden zur ASS-Resistenz-Diagnostik dar (Gladding et al. 2008, Hankey und Eikelboom 2006, Michelson et al. 2005, Nowak 2007).

Erythrozyten führen beispielsweise zu einer Verstärkung der Aggregation infolge einer Intensivierung der Thromboxan-Synthese, einer gesteigerten Phospholipase-Aktivität sowie einer Induktion der Plättchensekretion, wobei diese Effekte unabhängig von ASS sind (Santos et al. 1991, Valles et al. 1998). Ferner ließ sich nachweisen, dass die Anwesenheit von Monozyten und Makrophagen infolge der COX-2-Bildung zu einer ASS-unabhängigen Bildung von Thromboxan A<sub>2</sub> und damit zur Bildung von Plättchenaggregaten führt (Patrignani 2003). Zusammenfassend können diese hämostatischen Faktoren zu einer gesteigerten Plättchenaktivierung führen und somit möglicherweise zu einer Resistenz gegenüber ASS beitragen. Die erhöhte Prävalenz der durch den PADA-RASS ermittelten ASS-Resistenz könnte folglich durch eine erhöhte

Sensitivität infolge der Berücksichtigung dieser Parameter erklärt werden. Auf der anderen Seite könnte argumentiert werden, dass die Verwendung von Vollblut zu weniger konsistenten Ergebnissen führen und schwieriger zu interpretieren sein könnte (Lordkipanidze et al. 2007). Im Unterschied dazu wird die Anwendung von plättchenreichem Plasma zur ASS-Resistenz-Diagnostik durch eine Vielzahl von Autoren kritisiert (Gladding et al. 2008, Ivandic et al. 2007). So kommt es durch die initiale Zentrifugation zu einer Selektion der Plättchen, die nicht repräsentativ für den gesamten Blutplättchenpool ist (Mani und Lindhoff-Last 2009, Nowak 2007). Zudem ist das Ergebnis stark abhängig vom Hämatokritwert (Patrono 2003). Trotz Kontrolle der unzähligen Variablen, die das Testergebnis dieser Methodik beeinflussen können, besteht nach Meinung einiger Autoren bei fehlender Standardisierung eine hohe Messungenauigkeit und schlechte Reproduzierbarkeit (Hankey und Eikelboom 2006, Kim et al. 2010, Lordkipanidze et al. 2007). Weiter erscheint die Verwendung von Citrat als Antikoagulanzen aufgrund des calciumionenfreien Milieus als nachteilig und nicht physiologisch, denn Blutplättchen benötigen zur Erhaltung ihrer normalen Funktionsfähigkeit Calcium (Bretschneider et al. 1994, Gorog et al. 2009, Nowak 2007). Neben der Verwendung heparinantikoagulierten Vollblutes berücksichtigt der PADA-RASS die physiologischen Bedingungen der Plättchenaktivierung zusätzlich, indem er mit einem definierten Scherstress arbeitet. Die hierbei angewandte Schüttelfrequenz entspricht den Scherkräften, die auf die zirkulierenden Blutplättchen in den präkapillären Widerstandsgefäßen wirken (Nowak et al. 2005). Die fehlende Berücksichtigung dieser Bedingungen stellt nach Meinung einiger Autoren eine weitere wichtige Einschränkung anderer Testmethoden dar (Hankey und Eikelboom 2006, Lordkipanidze et al. 2007). Ferner wird in der Literatur diskutiert, dass die Wahl des Agonisten sowie dessen Konzentration die Messergebnisse entscheidend beeinflusst (Burke et al. 2003, Cattaneo 2004, Hankey und Eikelboom 2006, Zimmermann et al. 2008), sodass der Verzicht auf den Zusatz eines solchen Agonisten physiologischer und weniger störanfällig erscheint. Es konnte beispielsweise gezeigt werden, dass die Arachidonsäure, die in der aktuellen Literatur als der zu bevorzugende Agonist zur ASS-Resistenz-Diagnostik gilt (Cattaneo 2004, Michelson 2004, Nicholson et al. 1998), neben Thromboxan A<sub>2</sub> andere plättchenaktivierende Moleküle generieren kann (Basu 2004, Buchanan 2006). Zur Bestimmung des ASS-Resistenz-Status mit dem PADA-

RASS wird eine pharmakodynamisch wirksame Dosis der ASS zur Probe hinzu gegeben (1,25 mg ASS pro 10 µl Blut). Diese in-vitro-Zugabe hat den Vorteil, dass potentielle Störfaktoren wie etwa eine verminderte Compliance des Patienten sowie eine reduzierte Bioverfügbarkeit ausgeschaltet werden. Insbesondere die Problematik der Compliance stellt eine beachtenswerte Begrenzung vieler Studien dar (Hankey und Eikelboom 2006, Svenstrup Poulsen et al. 2005, Zimmermann und Hohlfeld 2008). Auf der anderen Seite könnte kritisch argumentiert werden, dass vor allem die Bioverfügbarkeit als eine in der Literatur diskutierte Ursache der ASS-Resistenz beim PADA-RASS nicht berücksichtigt wird und dies somit die Sensitivität des Tests einschränken könnte. Weiter diskussionswürdig ist die Konzentration der zugegebenen ASS. In grundsätzlichen Untersuchungen der AG „Pharmakologische Hämostaseologie“ wurden verschiedene ASS-Konzentrationen im Messansatz getestet und deren Einfluss der ASS-Konzentration auf das Messergebnis untersucht. Hierbei wurde die ASS-Konzentration mit Hilfe einer Verdünnungsreihe schrittweise von 1,25 mg pro 10 µl auf bis zu 0,0625 mg pro 10 µl verringert. Dies entspricht 1/25 der ASS-Ausgangskonzentration. Hierbei konnte kein Einfluss auf die Messresultate festgestellt werden. Durch die in-vitro-Zugabe der ASS ist es möglich, die ASS-Resistenz auch bei Patienten zu bestimmen, die kein ASS einnehmen. In dieser Arbeit konnte zudem gezeigt werden, dass eine Komedikation von ASS mit Clopidogrel, Enoxaparin oder Phenprocoumon keinen signifikanten Einfluss auf das ASS-Resistenz-Profil in der vorliegenden Studienpopulation hatte. Somit könnte die Methode in der Akutdiagnostik bei allen Patienten unabhängig von einer vorhergehenden gerinnungshemmenden Therapie eingesetzt werden. Dies sollte jedoch in nachfolgenden Analysen weiterführend untersucht werden. Eine Ausnahme stellt die Medikation mit GPIIb/IIIa-Antagonisten dar, deren Einfluss auf das Messergebnis aktuell nicht ausgeschlossen werden kann. Ferner ließen sich in der vorliegenden Untersuchung keine Assoziationen zwischen dem ASS-Resistenz-Profil und Blutbildparametern wie Hämatokrit sowie Erythrozyten-, Leukozyten- und Plättchenzahl nachweisen. Dieser Befund würde sich ebenfalls als vorteilhaft in der Anwendung des PADA-RASS als Point-of-Care-Test erweisen. Ein weiterer, sich aus der Vorgehensweise der in-vitro-Zugabe von ASS ergebender und beachtenswerter Vorteil des PADA-RASS ist die Anfertigung eines „Vor- und Nachher-Wertes“. Zimmermann und Hohlfeld beispielsweise kritisierten, dass



in einem Großteil der bisherigen Studien die ASS-Resistenz lediglich einmalig gemessen wurde und ein Bezugswert ohne ASS fehle (Zimmermann und Hohlfeld 2008). Erst mit einem Ausgangswert ohne ASS ist es letztendlich möglich, die eigentliche Wirkung der ASS auf die Plättchenaktivität zuverlässig einzuschätzen. Ohne diesen kann es zu Fehleinschätzungen kommen. Hat ein Patient beispielsweise bereits vor der ASS-Einnahme eine im Vergleich zum Normwert verminderte Plättchenreagibilität und die Zugabe von ASS würde zu keinem Effekt führen, würde ein Plättchenfunktionstest, der keinen Ausgangswert ermittelt, diesen Patienten trotzdem als ASS-Responder deklarieren (Cattaneo 2004). Einige Wissenschaftler, die auf dem Gebiet der ASS-Resistenz forschen, sind der Meinung, dass eine geeignete Labormethode zu deren Erfassung COX-spezifisch sein sollte (Blais et al. 2009, Frelinger et al. 2009, Kulickowski et al. 2009, Lordkipanidze et al. 2006, Lordkipanidze et al. 2007), wobei postuliert wird, dass die Messung der Inhibition der Thromboxan-Bildung diesbezüglich den verlässlichsten Laborparameter darstellt (Zimmermann et al. 2008). Diese Kritik könnte auf den ersten Blick auch den PADA-RASS betreffen, da die Plättchenaktivierung und die folgende Fibrinogen-Bindung an GPIIb/IIIa-Rezeptoren nicht ausschließlich durch Thromboxan A<sub>2</sub> bewirkt wird. Infolge der Verwendung einer Bezugsprobe ohne ASS sollte jedoch, zumindest theoretisch, kein anderer Effekt als der der ASS gemessen werden.

Der Befund der PRASA als eine paradoxe, durch ASS bewirkte Plättchenaktivierung stellt einen völlig neuen und möglicherweise klinisch hochrelevanten Aspekt dar. Demzufolge finden sich in der Literatur kaum vergleichbare Studien, die dieses Ergebnis stützen könnten. In einer Arbeit von Farrell zeigte sich beispielsweise eine paradoxe Zunahme der Aggregation unter 325 mg ASS bei einigen der gesunden Probanden, wohingegen diese Beobachtung bei geringeren Dosen nicht nachweisbar war (Farrell et al. 1998). Diese paradoxe Aggregationszunahme unter ASS ließ sich auch in weiteren Studien beobachten (Buchanan und Brister 1995, Mueller et al. 1997). Einige Untersuchungen belegen darüber hinaus eine erhöhte Mortalität bzw. ein erhöhtes Risiko vaskulärer Ereignisse unter Einnahme von ASS. In der sog. WASH-Studie wurde bei Patienten mit einer Herzinsuffizienz die Wirksamkeit von ASS im Vergleich zu Warfarin bzw. keiner plättchenhemmenden Therapie untersucht. Hierbei zeigte sich in der Patientengruppe unter ASS-Therapie ein nicht signifikanter Anstieg

der Rate an primären Endpunkten (Tod, nicht-fataler Myokardinfarkt oder Schlaganfall), eine Tendenz zu einem schlechteren Outcome sowie eine signifikante Häufung der Hospitalisierung aufgrund kardiologischer Ereignisse, darunter insbesondere einer Verschlechterung der Herzinsuffizienz (Cleland et al. 2004). Erste Richtlinien begannen somit bereits mit der Zurücknahme der ASS bei Hochrisikopatienten mit kardialen Erkrankungen (Swedberg et al. 2005). Alexander und Mitarbeiter evaluierten retrospektiv bei 9 461 Patienten der sog. PURSUT-Studie, inwieweit die vorhergehende Einnahme von ASS das Outcome der Patienten beeinflusst. Hierbei stellten sie fest, dass diejenigen Patienten, die bereits vor der Rekrutierung in die Studie ASS einnahmen, einen schlechteren Langzeitverlauf verbunden mit einem signifikant häufigeren Auftreten von Tod oder Myokardinfarkt nach 30 Tagen und tendenziell nach 6 Monaten hatten. Dieses Ergebnis war selbst nach Adjustierung der üblichen unabhängigen Risikofaktoren nachweisbar (Alexander et al. 1999). Dementsprechend ließ sich in zwei weiteren Studien der Zusammenhang zwischen einer Dauertherapie mit ASS und einem schlechteren Verlauf beobachten (Cohen et al. 1997, Haghani et al. 1993). Worauf diese Beobachtungen basieren, ist derzeit noch unklar.

Insgesamt ist zu beachten, dass das Ergebnis der PRASA zunächst lediglich im Zusammenhang mit der Verwendung von heparinantikoaguliertem Blut zu betrachten ist. Ähnliche Beobachtungen ließen sich nach Modifikation des PFA-100® entsprechend des Testprinzips des PADA-RASS machen, wobei sich eine stark verkürzte Verschlusszeit nach Zugabe von ASS im Vergleich zur Bezugsprobe ohne ASS ergab. Eine Studie von Webster und Mitarbeitern zeigte, dass unfractioniertes Heparin vorübergehend zu einer verschlechterten Antwort der Blutplättchen auf ASS führt (Webster et al. 2004). Die direkte oder indirekte Plättchenaktivierung durch Heparin könnte in einer von ASS unabhängigen Aktivierung der Plättchen resultieren (Storey et al. 2005). Dadurch ließe sich möglicherweise die sehr hohe Prävalenz der ASS-Resistenz in der vorliegenden Studie erklären und diese Tatsache würde die Anwendung in der klinischen Praxis stark einschränken. Inwieweit die Verwendung von Heparinblut jedoch tatsächlich die Messergebnisse beeinflusst, muss in weiteren Studien noch überprüft werden. Zu diesem Zweck könnte man beispielsweise Hirudin als Antikoagulanzen verwenden. Angesichts der Tatsache, dass in der Situation eines

kardiovaskulären Notfalles die aktuellen Leitlinien eine Akuttherapie sowohl mit Heparin als auch mit ASS empfehlen (Hamm et al. 2004a, Hamm et al. 2004b), scheint eine weitergehende Erforschung des Befundes der Plättchenaktivierung durch die in-vitro-Kombination aus Heparin und ASS bedeutsam. Ein zusätzlicher möglicher Kritikpunkt des PADA-RASS ist, analog zu allen anderen Methoden, die willkürliche Festlegung eines Grenzwertes zwischen ASS-Response und ASS-Resistenz (Kulickowski et al. 2009). Hankey und Eikelboom beispielsweise betrachten die ASS-Resistenz als eine Art Kontinuum, wobei ähnlich dem Blutdruckwert kein klarer „Cut-off-Wert“ zwischen dem Vorhandensein oder Nicht-Vorhandensein eines hohen Blutdrucks (MacMahon et al. 2005) bzw. einer ASS-Resistenz bestehen sollte und steigende Werte mit einem erhöhtem Risiko für vaskuläre Ereignisse assoziiert sind (Hankey und Eikelboom 2006). Analog hierzu fanden Helgason und Mitarbeiter, dass die Plättchenhemmung bei Patienten mit stattgehabtem ischämischen Insult trotz gleichbleibender ASS-Dosis im Verlauf nicht konsistent war (Helgason et al. 1994). Auch Zimmermann und Hohlfeld weisen darauf hin, dass die ASS-Resistenz durchaus transient sein kann (Zimmermann und Hohlfeld 2008). Dementsprechend erfolgten einige statistische Auswertungen im Rahmen dieser Arbeit zusätzlich unter Verwendung der Differenzen anstelle der festgelegten Profil-Gruppen. Die ermittelten Ergebnisse werden in Punkt 6.3.3 diskutiert.

In der vorliegenden Studie mussten aufgrund messtechnischer Probleme siebzehn Probanden sowie zehn Patienten von den Auswertungen ausgeschlossen werden. Wie in Punkt 5.4.4.5 beschrieben, kam es bei diesen Studienteilnehmern zu einem unerklärlichen Abfall des AI-Wertes in der Messprobe ohne ASS. Dies resultierte wiederum in einer Verfälschung des Testergebnisses. Die dargestellte Reaktion ließ sich bei den gleichen Probanden auch nach wiederholter Messung feststellen und stellt eine mögliche Einschränkung der Anwendung des PADA-RASS in der klinischen Routine dar. Einen Erklärungsansatz könnte möglicherweise die Tatsache liefern, dass die Bindung von Fibrinogen an GPIIb/IIIa erst nach etwa zehn Minuten irreversibel ist (Gawaz 1999), sodass es bei den entsprechenden Probanden eventuell zu einer Aufhebung der Bindung im Messansatz ohne ASS gekommen ist. Dies würde zu einem niedrigen Adhäsionsindex führen. Es ist jedoch nicht klar, warum diese Reaktion konstant lediglich im Messansatz ohne ASS erfolgte und sich wiederholt stets bei den

gleichen Probanden zeigte.

In den im Rahmen dieser Studie durchgeführten Untersuchungen zur Evaluation des PADA-RASS zeigte sich eine gute Reproduzierbarkeit der Methodik. Darüber hinaus ließen sich keine Assoziationen zwischen dem Zeitpunkt der Messungen (Jahres- und Tageszeit sowie Monat der Messung) und den Messergebnissen finden. Als nachteilig erwiesen sich der relativ hohe personelle Aufwand infolge der manuellen Bedienung, was zu einer möglichen subjektiven Variation führen könnte.

In den erfolgten Untersuchungen zur Vergleichbarkeit des PADA-RASS mit dem PFA-100® zeigte sich eine schlechte Konsistenz (Cohen's Kappa = -0,059,  $p = 0,743$ ). Dies könnte auf die voneinander abweichenden Testprinzipien der beiden Methoden zurückzuführen sein. Studien ergaben zusätzlich, dass die Messresultate des PFA-100® von einer Vielzahl von Faktoren abhängig sind, wie zum Beispiel die unterschiedliche Konzentration des Citrats zur Antikoagulation (von Pape et al. 2000), die Plättchenzahl, der Hämatokrit und die Plasmakonzentration des vWF (Chakroun et al. 2004, Kundu et al. 1996). Die in dieser Arbeit ermittelte schlechte Übereinstimmung der Messergebnisse war in der Literatur ebenso bei der Gegenüberstellung des PFA-100® mit anderen Methoden zur ASS-Resistenz-Diagnostik zu finden. So stellte sich bei der Ermittlung der Prävalenz der ASS-Resistenz bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen eine nur mäßige Übereinstimmung zwischen dem PFA-100® und der optischen Aggregometrie heraus (Gum et al. 2001). Diese Resultate wurden von Hezard und Mitarbeitern bestätigt, die ebenfalls die beiden genannten Methoden miteinander verglichen (Hezard et al. 2002). Lordkipanidze und Mitarbeiter untersuchten darüber hinaus sechs verschiedene Plättchenfunktionstests zur ASS-Resistenz-Diagnostik, darunter auch den PFA-100®, und belegten eine hohe Variabilität der Prävalenz sowie eine schlechte Übereinstimmung und Konsistenz der Testbefunde (Lordkipanidze et al. 2007). Diese Beobachtungen konnten durch weitere Studien diesbezüglich wiederholt gezeigt werden (Harrison et al. 2008). Möglicherweise ist die fehlende Übereinstimmung der Messergebnisse zusätzlich auf das Vorhandensein unterschiedlicher Typen der ASS-Resistenz zurückzuführen (Svenstrup Poulsen et al. 2005). Andere Autoren halten den PFA-100® als ungeeignet zur Erfassung der Resistenz gegenüber ASS (Cattaneo 2004), eine Studie von Andersen zeigte beispielsweise, dass die Behandlung mit ASS zu einer Aufhebung der Thromboxan-A<sub>2</sub>-Produktion sowohl

bei Patienten mit verlängerter als auch mit verkürzter Verschlusszeit führte (Andersen et al. 2002). Nach Modifizierung des PFA-100® gemäß des Testprinzips des PADA-RASS konnte die Konsistenz nur geringfügig von einer schlechten auf eine mäßige Übereinstimmung verbessert werden (Cohen's Kappa = 0,206; p = 0,099). Dieses Resultat könnte mit noch voneinander abweichenden Testprinzipien sowie den genannten Störfaktoren des PFA-100® erklärt werden.

## **6.3 Diskussion der Ergebnisse**

Im Zuge der umfassenden Plättchenfunktionsdiagnostik wurden neben der ASS-Resistenz zusätzlich die Plättchenadhäsivität sowie plättchengebundene HIT-II-AK bei allen Probanden und Patienten ermittelt und verglichen. Aufgrund des Umfangs der Ergebnisse sowie des thematischen Schwerpunktes der ASS-Resistenz wird in der folgenden Diskussion der Fokus auf die diesbezüglichen Resultate gelegt.

### **6.3.1 Ergebnisse der PADA-Messungen**

Als ein erstes Ergebnis konnte im Vergleich der beiden Studienpopulationen eine signifikant erhöhte Plättchenadhäsivität (p = 0,010) sowie eine gleichzeitig signifikant verminderte Plättchenzahl bei den Patienten im Vergleich zu den Probanden ermittelt werden (p = 0,000). Weiterhin ließ sich zusätzlich in beiden Studienkollektiven ein sinkender PADA-Adhäsionsindex bei steigenden Plättchenzahlen nachweisen (Probanden p = 0,001; Patienten p = 0,004). Das Ergebnis einer erhöhten Plättchenreaktivität bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen wird durch zahlreiche Studien gestützt, die eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung sowohl im Rahmen eines akuten Koronarsyndroms (Bigalke et al. 2006, Heeschen et al. 2003, Schultheiss et al. 1994, Trip et al. 1990), einer stabilen KHK sowie einer instabilen Angina pectoris (Fitzgerald et al. 1986, Furman et al. 2001, Hamm et al. 1987, Ott et al. 1996) als auch nach einer PTCA bzw. Stent-Implantation (Gawaz et al. 1996c, Kolarov et al. 1996, Neumann et al. 1996, Scharf et al. 1992, Tschoepe et al. 1993b) fanden. Hierbei wurden mit Hilfe der Durchflusszytometrie Plättchenaktivierungsmarker bestimmt. Analoge Resultate ließen sich jedoch auch unter Verwendung weiterer Plättchenfunktionstests, darunter der PFA-100®, zeigen (Fuchs et al. 2006, Harrison et

al. 2005). In einer Studie von Bowbrick und Mitarbeitern wurde ebenfalls ein signifikanter Unterschied der Plättchenaktivität zwischen gesunden Probanden und Patienten mit einer peripheren arteriellen Erkrankung festgestellt (Bowbrick et al. 2003). In einer Untersuchung von Lippi und Mitarbeitern wurde das mittlere Plättchenvolumen (MPV), welches positiv mit der Plättchenaktivität korreliert (Martin et al. 1991), bei Patienten mit Angina pectoris gemessen. Hierbei konnte ein signifikant erhöhtes MPV bei denjenigen Patienten festgestellt werden, die laborchemisch und elektrokardiografisch ein akutes Koronarsyndrom (AKS) erlitten (Lippi et al. 2009). In weiteren Untersuchungen bezüglich des MPV konnte ebenfalls dargelegt werden, dass dieses bei Patienten mit einem Myokardinfarkt höher ist als bei Patienten mit stabiler Angina pectoris bzw. bei gesunden Probanden (Boos et al. 2008, Kilicli-Camur et al. 2005).

Das in der vorliegenden Arbeit ermittelte Resultat einer sinkenden Plättchenzahl bei steigender Plättchenadhäsivität steht im Widerspruch zu diversen anderen Studien, die entweder einen positiven Zusammenhang zwischen der Plättchenzahl und der Plättchenaktivität (Bowbrick et al. 2003) oder keine Korrelation zwischen den genannten Parametern feststellen konnten (Boos et al. 2008, Lippi et al. 2009). Dahingegen zeigte sich in einer großen prospektiven Studie von De Luca und Mitarbeitern an insgesamt 1 411 Patienten, dass ein erhöhtes MPV signifikant mit einer verminderten Plättchenzahl einherging (De Luca et al. 2009), wobei die Untersucher diesen Befund durch einen erhöhten Verbrauch der Blutplättchen und eine kompensatorische Erhöhung der Produktion retikulärer Plättchen erklärten. Hierbei ist jedoch zusätzlich zu erwähnen, dass in dieser Studie kein Zusammenhang zwischen der Plättchenaggregation, gemessen mit Hilfe des PFA-100®, sowie des Ausmaßes der KHK und dem MPV ermittelt werden konnte. Auch weitere Arbeiten zeigten eine Assoziation zwischen einem erhöhten MPV und einer verminderten Plättchenzahl (Varol et al. 2009a). Ebenso konnte in einer Studie an 429 AKS-Patienten gezeigt werden, dass eine erhöhte Oberflächen-Expression und Plasmakonzentration von GPVI-Rezeptoren mit einer verminderten Plättchenanzahl korrelierte. Der GPVI-Rezeptor ist die Bindungsstelle der Plättchen für Kollagen und spielt bei der Adhäsion eine entscheidende Rolle (Jung et al. 2008, Nieswandt und Watson 2003). Die Autoren dieser Studie schlussfolgerten, dass dieser Zusammenhang auf eine erhöhte Aktivierung und

Rekrutierung der Blutplättchen im Bereich der Gefäßläsion zurückzuführen sein könnte (Bigalke et al. 2009). Ebenso könnten die verminderten Plättchenzahlen auf eine Spontanaggregation der Blutplättchen zurückzuführen sein, die gemäß der Studie von Wong und Mitarbeitern mit einem schlechteren klinischen Langzeitverlauf einhergeht (Wong et al. 2002).

In Untersuchungen der Patientenpopulation der vorliegenden Studie konnte ferner festgestellt werden, dass signifikant höhere PADA-Adhäsionsindizes bei zunehmender Liegedauer auf Station bestanden ( $p = 0,004$ ). Dieses Ergebnis ließ sich ebenfalls in einer Studie von Kashuk und Mitarbeitern nachweisen (Kashuk et al. 2009).

Im Rahmen dieser Arbeit konnte zusätzlich ein Zusammenhang zwischen einem erhöhten PADA-AI und erhöhtem Alter der Patienten gefunden werden ( $p = 0,044$ ). In einer großen Studie mit insgesamt 1 411 Patienten ließ sich ebenso belegen, dass eine erhöhte Plättchenaktivität, gemessen am MPV, mit einem erhöhten Alter korreliert (De Luca et al. 2009). Dieses Ergebnis könnte aufgrund des Altersunterschiedes zwischen den beiden Studienpopulationen den Vergleich der Adhäsivität beeinflussen. Tatsächlich war nach Adjustierung auf Alter und Geschlecht der Unterschied der Plättchenadhäsivität zwischen den Studienkollektiven nur noch bedingt vorhanden (nach Punkt 5.2), sodass letztendlich nicht völlig ausgeschlossen werden kann, dass dieser Befund auf die vorliegenden Altersunterschiede zurückzuführen ist.

In den Vergleichen verschiedener Subgruppen der Patienten mit den gesunden Probanden ließ sich eine signifikant erhöhte Plättchenadhäsivität bei den folgenden Erkrankungen und Dauermedikationen nachweisen: Herzinsuffizienz ( $p = 0,018$ ) sowie kardiale Dekompensation ( $p = 0,005$ ), Herzrhythmusstörungen ( $p = 0,000$ ), Herzklappenvitien ( $p = 0,000$ ), maligne Erkrankungen ( $p = 0,006$ ), chronische Niereninsuffizienz ( $p = 0,004$ ), arterielle Hypertonie ( $p = 0,040$ ), Adipositas ( $p = 0,030$ ) und generell Thrombosen bzw. Embolien ( $p = 0,012$ ). Auch andere Studien konnten einen Zusammenhang zwischen einer im Vergleich zu gesunden Probanden erhöhten Plättchenreaktivität und dem Vorliegen einer Herzinsuffizienz (Chung und Lip 2006, Gibbs et al. 2001, Loh et al. 1997, Smith et al. 1996), Herzrhythmusstörungen (Atalar et al. 2003, Kamath et al. 2002, Lip et al. 1996, Minamino et al. 1999, Shinohara et al. 1998), Herzklappenvitien (Diehl et al. 2008, Riddle et al. 1983, Varol et al. 2009b), malignen Erkrankungen (Falanga et al. 1994, Landolfi et al. 1984, Mantur et al. 2002,

Nash et al. 2002, Nierodzik et al. 1995), einer arterieller Hypertonie (Davi et al. 1997, Minuz et al. 2002, Minuz et al. 2004) und einer Adipositas (Coban et al. 2005, Desideri und Ferri 2003, Muscari et al. 2008) belegen.

Bezüglich der Plättchenaktivität bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz fanden sich kontroverse Ergebnisse in der Literatur. Einige Studien zeigen eine erhöhte Plättchenreaktivität, beispielsweise als Folge der Hämodialyse (Aggarwal et al. 2002, Bemis et al. 1977, Deguchi et al. 1991, Lindsay et al. 1975, Reverter et al. 1994, Viener et al. 1986), andere ergaben jedoch eine gestörte Plättchenfunktion, unter anderem als Folge der Urämie, mit einer daraus resultierenden Verlängerung der Blutungszeit und einem stark erhöhten Blutungsrisiko (Castillo et al. 1986, Mezzano et al. 1996, Remuzzi et al. 1990).

In zahlreichen Arbeiten wurde ausführlich belegt, dass eine erhöhte Plättchenaktivität im Rahmen eines Diabetes mellitus Typ II (Davi et al. 1990, Davi et al. 1997) und einer Hypercholesterinämie besteht (Davi et al. 1992). Ebenfalls ließ sich nachweisen, dass eine Plättchenaktivierung infolge eines chronischen Nikotinabusus bewirkt werden kann (Nowak et al. 1987). Diese Korrelationen konnten in der vorliegenden Studie unter Anwendung des PADA nicht nachgewiesen werden. Dies könnte möglicherweise mit der Tatsache begründet werden, dass mittels des PADA-Tests lediglich die Plättchenadhäsivität als der erste Schritt der Plättchenaktivierung gemessen wird. In den Messungen des PADA-RASS hingegen ließ sich letztendlich eine Assoziation zu den genannten kardiovaskulären Risikofaktoren feststellen (siehe fortlaufender Text).

Als ein weiteres Ergebnis der PADA-Messungen zeigte sich, dass bei denjenigen Patienten, die mit Phenprocoumon oder Enoxaparin behandelt wurden, ein signifikant erhöhter Adhäsionsindex im Vergleich zu den gesunden Probanden vorlag (Phenprocoumon:  $p = 0,042$ ; Enoxaparin:  $p = 0,005$ ). Dies könnte auf die Medikation selbst zurückzuführen sein, einige Studien belegen zumindest den Befund einer Plättchenaktivierung durch Heparin (Ellison et al. 1978, Pleym et al. 2006, Salzman et al. 1980, Thomson et al. 1973), wobei beachtet werden muss, dass dieser Effekt teilweise in geringerem Maße auch bei Enoxaparin nachweisbar war (Westwick et al. 1986, Xiao und Theroux 1998). Das Ergebnis der erhöhten PADA-Werte im Zusammenhang mit Enoxaparin und Phenprocoumon könnte jedoch auch indirekt hervorgerufen worden sein. Denn wie oben aufgeführt ergab sich eine erhöhte



Plättchenadhäsivität bei Patienten mit Herzrhythmusstörungen, die aufgrund dessen eine orale Antikoagulation mit Phenprocoumon erhalten. Ebenso war der PADA-AI bei einer Vielzahl kardiologischer Grunderkrankungen wie beispielsweise der Herzinsuffizienz, die unter anderem mit Enoxaparin behandelt werden, erhöht. Die antithrombozytäre Therapie mit ASS und Clopidogrel führte zu einem signifikant verringerten PADA-AI im Vergleich zu unbehandelten Patienten.

### **6.3.2 Ergebnisse der PADA-HIT-Messungen**

In der vorliegenden Studie wurden bei 69 % der kardiovaskulären Patienten plättchengebundene HIT-II-Antikörper detektiert. In weiteren Studien der AG „Pharmakologische Hämostaseologie“ unter Professor Nowak wurden Patienten nach stattgehabten Schlaganfall sowie unter chronischer Hämodialyse-Therapie untersucht, wobei sich ebenfalls entsprechend hohe Prävalenzen zeigten (44 % der Schlaganfall-Patienten sowie 38 % der Hämodialyse-Patienten). Die dargestellten Resultate stehen im großen Widerspruch zu den Prävalenz-Studien der HIT-II in der Literatur, die mit einer Häufigkeit von 0 % bis 2.7 % angegeben wird, wobei sich wesentlich geringere Häufigkeiten unter Enoxaparin, als niedermolekulares Heparin, zeigten (Girolami et al. 2003, Kappers-Klunne et al. 1997, Prandoni et al. 2005, Warkentin et al. 1995). Die Prävalenzen der HIT-II-Antikörper ohne einen zusätzlichen Thrombozytenabfall oder eine entsprechende Klinik liegen jedoch wesentlich höher, in einer aktuellen Studie von Greinacher und Mitarbeitern beispielsweise bei 56.1 % (Greinacher et al. 2009). Ebenso konnte in einer Arbeit von Ulbricht und Mitarbeitern gezeigt werden, dass die Prävalenz der HIT-II-AK-positiven Befunde je nach angewandtem Testverfahren stark variiert. So konnte in der genannten Untersuchung an chronischen Hämodialyse-Patienten eine Häufigkeit der HIT-II von 0 % mittels Heparin/PF4-ELISA und 65 % mittels <sup>14</sup>C-SRA gefunden werden (Ulbricht 2002). Weiterhin ist bei den in der vorliegenden Studie ermittelten HIT-II-AK-Prävalenzen zu beachten, dass die herkömmlichen Diagnostikmethoden lediglich die freien HIT-II-Antikörper im Serum bestimmen. Der PADA-HIT dagegen misst als einziger der bisher angewandten Tests indirekt die plättchengebundenen Antikörper. Es ist allgemein anerkannt, dass es erst nach Erreichen eines bestimmten Schwellenwertes HIT-II-Antikörper in freier Form im Blut

vorkommen (Nowak 2009), sodass sich dadurch möglicherweise die Unterschiede der ermittelten Häufigkeiten erklären lassen. Zusätzlich hat der PADA-HIT sehr niedrige Cut-off-Werte, was wiederum die erhöhte Sensitivität begründen könnte. Dabei ist erwähnenswert, dass neben den HIT-II-Antikörpern auch andere plättchengebundene IgG-Antikörper zu einem positiven Testbefund des PADA-HIT führen können, dies könnte wiederum zu einer eingeschränkten Spezifität führen.

Das Vorhandensein von HIT-II-Antikörpern auch bei gesunden Probanden ist ein weiteres diskussionwürdiges Ergebnis dieser Studie, in der bei 15 % der Probanden plättchengebundene Antikörper nachgewiesen werden konnten. Hierbei zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer in der Vergangenheit stattgefundenen Heparin-Medikation und einem positiven Testbefund ( $p = 0,002$ ). Es ist jedoch nachgewiesen, dass HIT-II-AK nicht persistieren (Warkentin und Kelton 2001). Möglicherweise könnten die plättchengebundenen Antikörper jedoch auch infolge einer durch endogene und Heparin-unabhängige Faktoren induzierten Exposition von PF-4-Komplexen und einer daraus resultierenden T- und schließlich B-Zell-Antwort entstanden sein. Diese Hypothese wurde von Greinacher und Mitarbeitern aufgestellt und könnte eine mögliche Erklärung für das Vorkommen von plättchengebundenen Antikörpern bei fehlender Klinik sein (Greinacher 2009, Greinacher et al. 2009). Weiterhin existieren gemäß der Literatur HIT-II-Antikörper auch ohne eine vorhergehende Heparin-Medikation, dies wird als sogenannte spontane HIT bezeichnet (Warkentin et al. 2008). Womöglich sind die detektierten Antikörper zusätzlich im Zusammenhang mit einer Autoimmunerkrankung zu sehen, denn aktuelle Arbeiten deklarieren die HIT-II als eine Autoimmunerkrankung (Nowak 2009). Die erhöhte Prävalenz der HIT-II-Antikörper bei weiblichen im Vergleich zu männlichen Patienten ( $p = 0,036$ ) wird gestützt durch weitere Untersuchungen (Martel et al. 2005, Warkentin et al. 2006).

Insgesamt muss die klinische Relevanz der Testergebnisse des PADA-HIT in fortführenden Studien untersucht werden.

### 6.3.3 Ergebnisse der PADA-RASS-Messungen

Von den 100 untersuchten gesunden Probanden waren 26 % ASS-Responder, 36 % ASS-Nonresponder und 38 % zeigten eine PRASA. Im Vergleich dazu waren 13 % der Patienten ASS-Responder und 26,4 % ASS-Nonresponder. Bei 58,6 % der Patienten wurde eine PRASA diagnostiziert. Ähnlich Ergebnisse konnten in einer weiteren Studie zur ASS-Resistenz an chronischen Hämodialyse-Patienten mit Hilfe des PADA-RASS ermittelt werden (ASS-Nonresponse: 21,1 %, PRASA: 59,2 %) (Hentrich 2010). Wie bereits dargestellt, zeigen die ermittelten Prävalenzen der ASS-Resistenz in der Fachliteratur mit 0,4 - 83 % eine enorme Spannweite (Bennett et al. 2008, Borna et al. 2005, Buchanan und Brister 1995, Fateh-Moghadam et al. 2005, Grottemeyer 1991, Grundmann et al. 2003, Gum et al. 2001, Hobikoglu et al. 2005, Hurlen et al. 1998, Mirkhel et al. 2006, Mueller et al. 1997, Pamukcu et al. 2007, Sanioglu et al. 2009, Thomson et al. 2009). Die hohen Prävalenzen in der vorliegenden Studie könnten durch die im Punkt 6.2 aufgeführten messtechnischen Prinzipien und einer daraus folgenden etwaigen höheren Sensitivität im Vergleich zu anderen Testverfahren erklärt werden. Trotz dessen ist die Häufigkeit unerwartet hoch. Bereits der Befund eines so häufigen Vorkommens der ASS-Resistenz bei vermeintlich gesunden Probanden war überraschend. Schon in früheren Plättchenfunktionsuntersuchungen an gesunden Probanden zeigte sich ebenfalls eine hohe Variabilität der Plättchenantwort auf ASS (Farrell et al. 1998, Pappas et al. 1994, Valettas und Morgan, CD, Reis, M 1997). Shen und Mitarbeiter untersuchten 745 gesunde Probanden und fanden eine Prävalenz der ASS-Resistenz von 21 %, wobei signifikant häufiger Frauen betroffen waren (Shen et al. 2009). Grundlegend lässt sich argumentieren, dass die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit vor allem hinsichtlich der PRASA und der hohen Prävalenz der ASS-Resistenz im Widerspruch zu den bisherigen Studien zur Wirksamkeit der ASS stehen (Antiplatelet Trialists' Collaboration 2002, Awtry und Loscalzo 2000, Lieve und Cucherat 2010). Einen möglichen Erklärungsansatz für diese Diskrepanz liefert John Cleland in einer Reaktion auf die Veröffentlichung der Metaanalyse der Antithrombotic Trialists' Collaboration 2002 (Cleland 2002b). Hierbei postuliert der Autor, dass ASS zu keiner Reduktion der Mortalität führe und vaskuläre Ereignisse beispielsweise infolge der analgetischen Wirkung lediglich kaschieren anstatt verhindern würde. Dadurch ließe

sich der in den Studien gezeigte vermeintliche Nutzen der ASS-Therapie auf nicht-fatale Ereignisse erklären. Darüber hinaus könne ASS das Risiko eines plötzlichen Todes erhöhen. In der PARIS-Studie ergab sich eine Zunahme des Risikos für einen plötzlichen Tod unter Sekundärprävention mit ASS von 4.4 % in der Placebo- auf 5.6 % in der ASS-Gruppe (The Persantine-aspirin Reinfarction Study (PARIS) research group 1980), in der AMIS-Studie von 2.0 % auf 2.7 % (The Aspirin Myocardial Infarction Study research group 1980). In einer der größten und bedeutendsten Studien zur Wirksamkeit der ASS, die ISIS-2-Studie, konnte eine Reduktion des Risikos eines Reinfarktes oder Todes bei Patienten nach stattgehabtem Myokardinfarkt durch eine fünfwöchige Einnahme von ASS im Vergleich zu Placebo gezeigt werden. Ein Beleg dafür, dass die Therapie mit ASS über fünf Wochen hinaus gehen solle, wurde jedoch laut Cleland nicht geliefert (Cleland 2006). Weiter argumentiert Cleland, dass einige Metaanalysen zur Wirksamkeit von ASS durch sogenannte Publikations-Bias verfälscht seien, da Untersuchungen mit kleineren Studienpopulationen und negativen Ergebnissen nicht publiziert und somit nicht in die Metaanalysen eingeschlossen würden. Weiter würden Arbeiten mit unbequemen Resultaten, wie etwa die sogenannte PEP-Studie, die einen Überschuss an koronaren Ereignissen in der ASS-Gruppe ergab, ignoriert werden (Cleland 2002b, Pulmonary Embolism Prevention (PEP) trial Collaborative Group 2000).

Der Hauptbefund der vorliegenden Arbeit ist der signifikante Unterschied der Prävalenz der ASS-Resistenz zwischen gesunden Probanden und kardiovaskulären Patienten ( $p = 0,016$ ). Dieser ließ sich nach Adjustierung nach Alter und Geschlecht nur noch tendenziell nachweisen ( $p = 0,077$ ), so dass letztendlich nicht völlig ausgeschlossen werden kann, dass der festgestellte Unterschied der Prävalenzen auf die vorbestehenden Alters- und Geschlechtsunterschiede der Studienpopulationen zurückzuführen ist. Die Messergebnisse des PADA-RASS zeigen jedoch, wie bereits aufgeführt, keine Assoziation zum Alter und Geschlecht. In weitergehenden statistischen Untersuchungen unter Verwendung der Differenzen der Adhäsionsindizes ohne und mit ASS anstelle der drei Ausprägungen des ASS-Resistenz-Profils ließ sich der Befund des Prävalenzunterschiedes zusätzlich nachweisen ( $p = 0,001$ ), wobei die Patienten signifikant niedrigere Differenzen im Vergleich zu den gesunden Probanden (MW Probanden: -1,3; MW Patienten: -7,6) zeigten und niedrige Differenzen einer

ASS-Nonresponse bzw. einer PRASA entsprachen. In der sich daran anschließenden multiplen Regression konnte schließlich ein signifikanter, nach Alter und Geschlecht adjustierter Einfluss der Kollektivzugehörigkeit auf die Differenzen der Adhäsionsindizes belegt werden ( $p = 0,006$ ). Dieses Ergebnis wird unterstützt durch eine Metaanalyse von Crescente und Mitarbeitern, in der 53 Studien mit insgesamt 2 283 scheinbar gesunden Probanden und 4 167 Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen analysiert wurden. Hierbei zeigte sich, dass die Prävalenz der ASS-Nonresponder, gemessen mit dem PFA-100®, signifikant höher in der Population der Patienten war (Crescente et al. 2008). Ein Studie mit einem direkten Vergleich zwischen gesunden Probanden und Patienten ließ sich in der aktuellen Fachliteratur nicht finden. In einer ähnlich konzipierten Untersuchung der Arbeitsgruppe „Pharmakologische Hämostaseologie“ zur ASS-Resistenz bei chronischen Hämodialyse-Patienten mit Hilfe des PADA-RASS konnte ebenfalls ein signifikanter Unterschied der Prävalenzen zwischen gesunden Probanden und Patienten festgestellt werden ( $p = 0,021$ ) (Hentrich 2010). Diese Ergebnisse könnten beispielsweise auf eine erhöhte Plättchenreaktivität bei den Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden zurückzuführen sein, denn dies ließ sich mit Hilfe des PADA auch im vorliegenden Studienkollektiv nachweisen.

Um zusätzlich beschreiben zu können, welche der erfassten Erkrankungen und Risikofaktoren der Patienten mit signifikanten Unterschieden des ASS-Resistenz-Profiles im Vergleich zu den gesunden Probanden assoziiert waren, wurden die entsprechenden Patientengruppen mit den Probanden verglichen. Dabei muss jedoch erwähnt werden, dass aufgrund der gegebenen Mehrfachdiagnosen der Patienten die gefundenen Unterschiede nur beschreibenden Charakter haben und gegebenenfalls auch durch Wechselwirkungen der einzelnen Diagnosen untereinander bedingt sein könnten. Ebenso hätte ein gruppeninterner Vergleich der einzelnen Patientensubgruppen erfolgen können, auf den jedoch aufgrund der zentralen Fragestellung der vergleichenden ASS-Resistenz-Diagnostik zwischen gesunden Probanden und Patienten verzichtet wurde.

Im Vergleich zu den gesunden Probanden zeigte sich ein signifikant weniger häufiges Auftreten einer ASS-Response sowie ein signifikant häufigeres Vorkommen einer PRASA bei Patienten mit den folgenden Diagnosen bzw. Risikofaktoren: KHK ( $p = 0,007$ ), akutes Koronarsyndrom ( $p = 0,015$ ), darunter insbesondere instabile Angina pectoris ( $p = 0,006$ ), Herzinsuffizienz ( $p = 0,020$ ), Diabetes mellitus ( $p = 0,020$ ) und

Hyperlipidämie ( $p = 0,047$ ). Weiterhin zeigten Patienten nach einer aktuellen Intervention im Herzkatheter signifikant häufiger eine ASS-Nonresponse sowie eine PRASA ( $p = 0,003$ ). Diese Befunde könnten somit einen Erklärungsansatz für den ermittelten Prävalenzunterschied zwischen Probanden und kardiovaskulären Patienten darstellen.

Bezüglich der ermittelten verminderten ASS-Response sowie der erhöhten Häufigkeit der PRASA bei Patienten mit einer KHK konnten Studien belegen, dass eine erhöhte Genese der COX-2 in arteriosklerotischen Geweben induziert wird und somit einen alternativen Stoffwechselweg der Thromboxan-A<sub>2</sub>-Synthese darstellt (Baker et al. 1999, Schonbeck et al. 1999). Dieser Mechanismus könnte eine mögliche Ursache für die erhöhte Prävalenz der ASS-Resistenz bei Patienten mit KHK als eine Manifestation der Arteriosklerose sein (Cipollone et al. 2000, Fuster et al. 1992). Weiter konnte gezeigt werden, dass es infolge der endothelialen Dysfunktion im Rahmen der Arteriosklerose zu einer Beeinträchtigung der Synthese von Stickstoffmonoxid (NO) sowohl durch das Endothel als auch durch die Thrombozyten kommt (Russo et al. 2002). NO ist jedoch ein bedeutender Inhibitor der Plättchenaktivität, sodass diese NO-Insuffizienz zur ASS-Resistenz beisteuern könnte (Loscalzo 2001). Eine Studie von Poston und Mitarbeitern ergab darüber hinaus, dass ein vorhandener Endothelschaden bei der Entstehung von koronaren Bypass-Thrombosen mit dem Vorliegen einer ASS-Resistenz begünstigend zusammenwirkt (Poston et al. 2006). Einige vaskuläre Erkrankungen gehen mit einem erhöhten Plättchenverbrauch einher. Dadurch kommt es zu einem gesteigerten Plättchenumsatz, was wiederum zu einer erhöhten Produktion von Thrombozyten führt, die zur Thromboxan-Bildung trotz ASS fähig sind. Tatsächlich konnte in einer Studie von Guthikonda und Mitarbeitern gezeigt werden, dass ein verminderter antithrombozytärer Effekt der ASS mit der Anzahl von unreifen Plättchen positiv assoziiert war (Guthikonda et al. 2007). Zusätzlich konnte dargestellt werden, dass Patienten mit einer KHK eine erhöhte Ansprechbarkeit auf ADP oder Kollagen aufweisen. Hierbei waren geringere Konzentrationen von ADP und Kollagen nötig, um eine Plättchenaktivierung hervorzurufen (Kawasaki et al. 2000, Macchi et al. 2002). Diese Konstellation resultiert in einem von ASS unabhängigen und bei KHK-Patienten vermehrt ablaufenden Stoffwechselweg zur Plättchenaktivierung. Diese Erkenntnis könnte wiederum die erhöhte Prävalenz der ASS-Resistenz bei Patienten mit KHK in

der vorliegenden Studie erklären.

Das in dieser Arbeit ermittelte Ergebnis einer verminderten ASS-Response sowie eines gehäuftens Auftretens einer PRASA bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom (AKS) deckt sich mit den Resultaten von Hobikoglu und Mitarbeitern, die Patienten mit einem AKS im Vergleich zu Patienten mit stabiler KHK untersuchten und eine deutlich erhöhte Prävalenz in der AKS-Gruppe fanden (40,3 % vs. 27 %) (Hobikoglu et al. 2005). Ein Erklärungsansatz für diese Ergebnisse könnte ein erhöhter Kathecholaminspiegel im Plasma der Patienten infolge dieses Akutereignisses mit einer konsekutiv gesteigerten Plättchenreaktivität sein. Es wurde gezeigt, dass eine gesteigerte Aktivität des sympathischen Nervensystems den antiaggregatorischen Effekt von ASS revertieren kann. So konnte in einer initialen Studie von Larsson und Mitarbeitern bestätigt werden, dass ASS nur bedingt in der Lage ist, die Noradrenalin-induzierte Thrombozytenaggregation zu verhindern (Larsson et al. 1994). Auch anschließende Studien belegen eine Thromboxan-A<sub>2</sub>-unabhängige Plättchenaktivierung über Stimulation des  $\alpha$ -Adrenorezeptors durch eine erhöhte Plasmakonzentration an Kathecholaminen während körperlicher Belastung (Hurlen et al. 2000, Pamukcu et al. 2005a). Der gefundene Zusammenhang zwischen einer erhöhten Prävalenz der ASS-Resistenz beim AKS zeigte sich ebenso in einer Studie von Borna und Mitarbeitern. Hierbei waren 83,3 % der Patienten mit einem STEMI resistent gegenüber ASS, wohingegen dies bei 26,0 % der Patienten mit NSTEMI und bei nur 9,7 % der Patienten mit thorakalen Schmerzen ohne kardiale Erkrankungen der Fall war. Es zeigte sich, dass die Patienten, die einen STEMI erlitten, deutlich erhöhte ADP-Spiegel im Plasma aufwiesen und diese wiederum mit einer gesteigerten Plättchenaktivierung korrelierten. Die Autoren postulierten, dass erhöhte ADP-Plasma-Konzentrationen die Ursache für die gesteigerte Plättchenaktivität und somit für die ASS-Resistenz sein könnten (Borna et al. 2005). Dies konnte in weiteren Studien ebenso festgestellt werden (Macchi et al. 2002). In der CURE (Yusuf et al. 2001) sowie der CREDO-Studie (Steinhubl et al. 2002), in denen die Kombinationstherapie mit Clopidogrel und ASS im Vergleich zur alleinigen Gabe von ASS untersucht wurde, ergab sich ein klinischer Benefit der zusätzlichen Gabe von Clopidogrel bei AKS-Patienten. Interessanterweise konnte dieser Nutzen nicht bei Patienten mit stabiler KHK nachgewiesen werden. Dieser Unterschied könnte möglicherweise auf eine erhöhte Prävalenz der ASS-Resistenz in den

Patientengruppen mit AKS zurückzuführen sein (Zimmermann und Hohlfeld 2008).

In der vorliegenden Arbeit wurde ein signifikant häufigeres Auftreten einer ASS-Nonresponse bzw. einer PRASA bei denjenigen Patienten, die während des stationären Aufenthaltes einer Herzkatheteruntersuchung bzw. -intervention unterzogen worden sind, nachgewiesen. Diese Ergebnisse decken sich mit denen von Serebruany und Mitarbeitern, die ebenfalls ein gehäuftes Auftreten einer Resistenz der Plättchen gegenüber ASS unmittelbar vor oder nach stattgehabter perkutaner Koronarangioplastie feststellten (Serebruany et al. 2001). In weiteren Studien ließ sich eine erhöhte Plättchenaktivität bei Patienten nach PTCA bzw. Rotablation feststellen (Bau et al. 2000, Gawaz et al. 1996b, Inoue et al. 1996, Scharf et al. 1992). Dieser Befund spricht für ein vermindertes Ansprechen der Plättchen auf ASS. Infolge des Traumas durch die Intervention kommt es zu einem erhöhten Plättchenumsatz und dadurch zu einem größeren Anteil an aktiver, nicht durch ASS acetylierter Zyklooxygenase. Somit wäre eine Thromboxan-A<sub>2</sub>-Synthese trotz ASS-Einnahme möglich (Zimmermann et al. 2003). Ferner ist zu bedenken, dass diejenigen Patienten, bei denen in der vorliegenden Studie eine Herzkatheteruntersuchung durchgeführt wurde, zuvor meist an einem akuten Koronarsyndrom litten. In dieser Arbeit zeigte sich zusätzlich eine erhöhte Prävalenz der ASS-Resistenz bei Patienten mit einem AKS, so dass die gefundene Häufigkeit im Rahmen der perkutanen koronaren Intervention auch darauf zurückzuführen sein könnte.

Ein sehr interessantes Ergebnis dieser Arbeit ist der Zusammenhang zwischen dem verminderten Vorkommen einer ASS-Response sowie dem gehäuften Auftreten einer PRASA bei Patienten mit einer Herzinsuffizienz. Auch in einer aktuellen Studie von Fong und Mitarbeitern bei 465 Schlaganfallpatienten zeigte sich, dass diejenigen Patienten mit einer kongestiven Herzinsuffizienz signifikant häufiger an einer ASS-Resistenz litten (Fong et al. 2010). Wie in Punkt 2 erläutert, inhibiert ASS die COX-1 der Blutplättchen und damit die Thromboxan-A<sub>2</sub>-Bildung irreversibel, wohingegen die Hemmung der Prostaglandin-Synthese durch das Gefäßendothel reversibel ist. Prostaglandine wirken vasodilatorisch und plättchenhemmend. Obwohl die Hemmung der Prostaglandin-Synthese reversibel ist, zeigen Studien, dass bei Patienten mit Herzerkrankungen, darunter vor allem herzinsuffiziente Patienten, die Wirkung der ASS auf das Gefäßendothel verlängert sein kann (Cleland 2002a, Cleland und Poole-Wilson



1996, Davie et al. 2000). Dies könnte einen Erklärungsansatz für die erhöhte Rate der ASS-Resistenz bei den Patienten mit Herzinsuffizienz in der vorliegenden Studie sein. Nach Cleland und Davie ist die Gabe von ASS bei Patienten, die an einer Herzinsuffizienz leiden und kritisch abhängig von einer Hochregulation der vasodilatatorischen Prostaglandine sind, sehr risikoreich (Cleland 2006, Davie et al. 2000). In der WASH-Studie wurde bei Patienten mit einer Herzinsuffizienz die Wirksamkeit von ASS im Vergleich zu Warfarin bzw. keiner plättchenhemmenden Therapie untersucht. Hierbei zeigte sich, wie bereits im vorhergehenden Text erläutert, ein nicht signifikanter Anstieg der Rate an primären Endpunkten, eine Tendenz zu einem schlechteren Outcome sowie eine signifikante Häufung der Hospitalisierung aufgrund kardiologischer Ereignisse in der Patientengruppe unter ASS-Therapie (Cleland et al. 2004).

Der gefundene Zusammenhang zwischen der ASS-Resistenz und dem Vorliegen eines Diabetes mellitus wird gestützt durch die Annahme, dass ein gestörter Proteinmetabolismus infolge der Protein-Glykosylierung bei Patienten mit Diabetes mellitus zu einer Beeinträchtigung der Acetylierung der Zyklooxygenase führen könnte (Watala et al. 2005). In einer Studie von Sacco und Mitarbeitern zeigte sich außerdem, dass die Prävention kardiovaskulärer Ereignisse durch ASS bei Patienten mit Diabetes mellitus weniger effektiv ist im Vergleich zu Patienten mit anderen kardiovaskulären Risikofaktoren (Sacco et al. 2003). Generell ergab eine Vielzahl von Untersuchungen eine erhöhte Plättchenaggregabilität bzw. -reaktivität bei Patienten mit Diabetes mellitus (Assert et al. 2001, Bridges et al. 1965, Hughes et al. 1983, Queen et al. 2003, Rosove et al. 1984, Singla et al. 2009, Vinik et al. 2001). Dies könnte beispielsweise mit der Tatsache begründet sein, dass die Blutplättchen dieser Patienten ein vergrößertes Volumen haben (Hekimsoy et al. 2004, Tschoepe 1995) und somit eine erhöhte Anzahl und Aktivität der Glykoprotein-Rezeptoren aufweisen (Eibl et al. 2004, Keating et al. 2003, Tschoepe et al. 1990, Yngen et al. 2004). Zusätzlich zeigte sich in den Phospholipidmembranen von aktivierten Blutplättchen eine erhöhte Konzentration an Arachidonsäurederivaten mit vermehrter Bildung von Thromboxan A<sub>2</sub> (Davi et al. 1990, Halushka und Halushka 2002, Tomaselli et al. 1990). Diese gesteigerte Plättchenaktivität bei Patienten mit Diabetes mellitus könnte möglicherweise ein gehäuftes Auftreten der ASS-Resistenz erklären. In zahlreichen weiteren Arbeiten wird

ebenso ein Zusammenhang zwischen der ASS-Resistenz und einem Diabetes mellitus unterstellt (Ajjan et al. 2008, Angiolillo et al. 2006, Angiolillo und Suryadevara 2009). Cohen und Mitarbeiter untersuchten Patienten mit Diabetes mellitus und fanden heraus, dass der Befund der ASS-Resistenz signifikant mit einem HbA1c-Wert  $\geq 8\%$  assoziiert war (Cohen et al. 2008). Dieser Befund ließ sich auch in weiteren Studien bestätigen (Ertugrul et al. 2010, Singla et al. 2009).

Das Resultat der erhöhten Prävalenz der ASS-Resistenz bei Patienten mit einer Hyperlipidämie deckt sich mit dem von Shen und Mitarbeitern, die einen signifikanten Zusammenhang zwischen einem erhöhten Cholesterinspiegel und dem Vorhandensein einer Resistenz gegenüber ASS fanden (Shen et al. 2009). In einer Studie von Davi und Mitarbeitern wurde die Synthese von Thromboxan A<sub>2</sub> im Zusammenhang mit kardiovaskulären Risikofaktoren untersucht. Mit Hilfe einer multivariaten Analyse zeigte sich hierbei, dass das Vorliegen eines Diabetes mellitus sowie einer Hypercholesterinämie unabhängig mit einem erhöhten Plasmaspiegel des Thromboxan A<sub>2</sub> korrelierten (Davi et al. 1997). Die ermittelten Zusammenhänge werden durch eine Studie von Friend und Mitarbeitern unterstützt, in der Studienteilnehmer mit einem erhöhten Cholesterinspiegel im Blut ein signifikant vermindertes Ansprechen auf ASS zeigten (Friend et al. 2003). Infolge einer nicht-enzymatischen, durch freie Radikale katalysierten Lipidperoxidation im Rahmen eines erhöhten Oxidationsstresses kommt es zur Bildung von sogenannten Isoprostanen. Diese induzieren eine Vasokonstriktion und beeinflussen die Plättchenfunktion. In Studien konnte gezeigt werden, dass eine erhöhte Konzentration dieser Isoprostane bei Patienten mit Diabetes mellitus, Hypercholesterinämie und chronischem Nikotinabusus vorliegt (Morrow et al. 1995). Dies könnte wiederum ein Erklärungsansatz für das häufigere Vorkommen der ASS-Resistenz bei Patienten mit diesen kardiovaskulären Risikofaktoren sein (Basu 2004, Cipollone et al. 2000, Patrignani 2003).

Insgesamt lässt sich bezüglich der postulierten Mechanismen der ASS-Resistenz bzw. der gefundenen Zusammenhänge nicht exakt abgrenzen, welcher Parameter einen direkten, unabhängigen Einfluss auf das Auftreten einer Resistenz gegenüber ASS hat. So könnten beispielsweise eine endotheliale Dysfunktion oder erhöhter oxidativer Stress, wären sie eine unmittelbare Ursache der Resistenz, die gefundenen positiven Assoziationen zwischen der ASS-Resistenz und den oben genannten kardiovaskulären

Risikofaktoren biochemisch begründen.

In der vorliegenden Studie ließ sich kein Zusammenhang zwischen einer ASS-Resistenz und demografischen Daten wie Alter und Geschlecht sowie einem chronischen Nikotinabusus feststellen. Diese Ergebnisse stehen im Widerspruch zu einigen Untersuchungen. In einer Studie zum antithrombozytären Effekt von ASS bei Patienten mit cerebrovaskulären Erkrankungen zeigte sich, dass ältere und weibliche Patienten im Vergleich zu anderen Subpopulationen eine geringere Wahrscheinlichkeit für ein adäquates Ansprechen auf die ASS-Therapie hatten (Alberts et al. 2004). Analog hierzu fanden diverse Studien einen Zusammenhang zwischen einem erhöhten Lebensalter sowie dem weiblichen Geschlecht und dem gehäuftem Auftreten der ASS-Resistenz (Becker et al. 2006, Chen et al. 2004, Pamukcu et al. 2007, Shen et al. 2009). Insgesamt wird der Einfluss von Alter und Geschlecht jedoch kontrovers diskutiert. Weitere Arbeiten belegen, dass das weibliche Geschlecht sowie ein höheres Alter potentielle Risikofaktoren für ein vermindertes Ansprechen auf ASS darstellen (Alberts et al. 2004, Gum et al. 2003), wohingegen andere Untersuchungen gegenteilige Ergebnisse ermittelten (Chamorro et al. 1999, Grundmann et al. 2003). Bezüglich des Zusammenhangs zwischen einer ASS-Resistenz und einem chronischen Nikotinabusus liegen ebenso kontroverse Ergebnisse in der Literatur vor: Hung und Mitarbeiter stellten fest, dass Rauchen das Risiko einer Thrombusbildung bei Patienten mit KHK unter Einnahme von ASS erhöht (Hung et al. 1995). Auch weitere Studien fanden einen signifikanten Zusammenhang zwischen einem chronischen Nikotinabusus und der ASS-Resistenz (Davis et al. 1985, Mirkhel et al. 2006). Im Gegensatz dazu beobachteten Gum und Mitarbeiter in einer Studie mit 325 Patienten ein signifikant selteneres Vorkommen einer ASS-Resistenz bei Rauchern (Gum et al. 2001). Weiterhin fanden Weber und Mitarbeiter eine bessere Ansprechbarkeit der Thrombozyten auf ASS bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern (Weber et al. 2000). In der vorliegenden Arbeit ließ sich kein Zusammenhang zwischen einer ASS-Resistenz und einer Adipositas feststellen. Diese Ergebnisse stehen in Diskrepanz zu denen anderer Studien (Bordeaux et al. 2010, Cohen et al. 2008, Tamminen et al. 2003).

Abschließend soll noch ergänzt werden, dass sich in der Untersuchung zur ASS-Resistenz bei chronischen Hämodialyse-Patienten ähnlich dieser Studie ein gehäuftes Vorkommen der ASS-Resistenz bei Patienten mit den folgenden Vorerkrankungen und

Risikofaktoren im Vergleich zu gesunden Probanden zeigte: Zustand nach Myokardinfarkt, KHK, Herzinsuffizienz, absolute Arrhythmie, diabetische Nephropathie, arterielle Hypertonie und Diabetes mellitus (Hentrich 2010).

## 7 Schlussfolgerung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit ergaben sich in Bezug auf die in Punkt 3 dargelegten Hauptfragestellungen folgende Resultate: Die Häufigkeit der ASS-Nonresponse mit 36 % bei den gesunden Probanden und 26,4 % bei den Patienten sowie die Prävalenzen der PRASA mit 38 % bei den Probanden und 58,6 % bei den Patienten sind unerwartet hoch. Es zeigte sich weiterhin ein signifikanter Unterschied des ASS-Resistenz-Profils im Sinne eines häufigeren Auftretens der ASS-Resistenz bei den kardiovaskulären Patienten. In vergleichenden Untersuchungen konnte ein signifikant häufigeres Vorkommen einer PRASA sowie ein signifikant selteneres Auftreten einer ASS-Response bei Patienten mit einer koronaren Herzerkrankung, einem akuten Koronarsyndrom, einer Herzinsuffizienz, einem Diabetes mellitus, einer Hyperlipidämie sowie nach stattgehabter Intervention im Herzkatherter festgestellt werden. Die Messergebnisse des PADA-RASS zeigten eine gute Konsistenz bei einer schlechten Vergleichbarkeit mit dem PFA-100®, die selbst nach dessen Modifikation nur gering verbessert werden konnte. Es konnte kein Zusammenhang zwischen den Messergebnissen des PADA-RASS und dem Zeitpunkt der Messung, dem Alter und Geschlecht sowie den Blutbildparametern in der vorliegenden Studienpopulation gefunden werden. Die vorliegende Untersuchung stellt eine der ersten Analysen zur ASS-Resistenz-Diagnostik mit Hilfe des PADA-RASS dar. In sich anschließenden Studien muss gezeigt werden, inwieweit die ermittelten Ergebnisse klinische Relevanz besitzen und ob die gefundenen erhöhten Prävalenzen spezifischer Subgruppen der Patienten im Vergleich zu den gesunden Probanden verifiziert werden können.

Gemäß den aktuellen wissenschaftlichen Erkenntnissen zeigt ein erheblicher Anteil der mit ASS behandelten Patienten, unabhängig vom angewandten Verfahren, ein messtechnisch erfassbares vermindertes Ansprechen auf ASS. Aufgrund des durch eine Vielzahl von Studien gezeigten Zusammenhangs zwischen einer vorliegenden ASS-Resistenz und einem schlechten klinischen Langzeitverlauf ist es von großer Bedeutung,

die betroffenen Patienten zu identifizieren bzw. Risikogruppen zu bestimmen. Eine geeignete validierte und standardisierte Nachweismethode ist hierfür unabdingbare Voraussetzung. Inwieweit sich der PADA-RASS zur Diagnostik der ASS-Resistenz eignet, muss in weiterführenden Studien evaluiert werden.

Zukünftig wäre die Entwicklung eines international akzeptierten Konsens zur standardisierten Durchführung und Interpretation der ASS-Resistenz-Diagnostik erstrebenswert. Inwiefern eine Dosisanpassung, eine gezielte Kombination oder der Ersatz durch andere Thrombozytenaggregationshemmer bei einer vorliegenden Resistenz gegenüber ASS geeignet sind, die klinische Prognose zu verbessern, ist aktuell noch nicht ausreichend geklärt. Therapeutische Alternativen zur ASS wären beispielsweise Clopidogrel (Yusuf et al. 2001) oder Ticlopididin (Aleil et al. 2007), wobei sich in zahlreichen Untersuchungen zusätzlich Hinweise auf eine Clopidogrel-Resistenz ergaben (Armero et al. 2010, Serebruany et al. 2005). Eine neue und erfolgsversprechende Substanz ist Prasugrel, ein Thienopyridin der dritten Generation, das sich durch eine wesentlich stärkere Plättchenhemmung im Vergleich zu ASS und Clopidogrel auszeichnet (Brandt et al. 2007, Jernberg et al. 2006, Montalescot et al. 2009, Wiviott et al. 2007). Daneben sind noch einige weitere Substanzen zur Plättchenfunktionshemmung, wie beispielsweise Ticagrelor oder Cangrelor, in der klinischen Entwicklung (Harrington et al. 2009, Wallentin et al. 2009). Bei einem nicht außer Acht zu lassenden Blutungsrisiko infolge des Einsatzes neuer Substanzen sollte jedoch ein selektiver Einsatz dieser Medikamente angestrebt werden (Geisler und Gawaz 2008). Einen weiteren aktuellen Ansatz zur umfassenden Hemmung der Plättchen-vermittelten Thrombose stellt die Anwendung von Thrombin-Rezeptor-Hemmstoffen (PAR-1-Inhibitoren) dar. Von besonderem Vorteil hierbei ist die Tatsache, dass der Wirkstoff nicht kritisch in die Physiologie der Hämostase eingreift und somit kein erhöhtes Blutungsrisiko infolge der Anwendung zu erwarten ist (Angiolillo et al. 2010, Coughlin 2005, Morrow et al. 2009).

In der heutigen „modernen“ Medizin erfolgt keine Blutdruckeinstellung ohne gleichzeitige und regelmäßige Blutdruckmessungen, keine Behandlung eines Diabetes mellitus ohne die Laborkontrollen des Blutzuckers und keine orale Antikoagulation ohne eine fortlaufende Anpassung an den INR-Wert. Warum also erfolgt bisher keine standardisierte Messung der Plättchenfunktion bei Patienten, die aufgrund vaskulärer

Risikofaktoren auf eine Thrombozytenaggregationshemmung angewiesen sind (Sharma et al. 2009)? Möglicherweise könnte in Zukunft die plättchenhemmende Therapie bei jedem Patienten individuell angepasst und regelmäßig überprüft werden. Eine dadurch wahrscheinlich zu erreichende Minimierung der Rate an arteriellen Thrombosen würde eine enorme gesundheitsökonomische und vor allem Patienten-individuelle Bedeutung haben.

## 8 Literatur- und Quellenverzeichnis

- Acikel S, Yildirim A, Aydinalp A, Bal U, Kaynar G, Ozin B, Muderrisoglu H. 2009. The clinical importance of laboratory-defined aspirin resistance in patients presenting with non-ST elevation acute coronary syndromes. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 20(6):427-432.
- Addad F, Chakroun T, Abderazek F, Ben-Farhat M, Hamdi S, Dridi Z, Gamra H, Hassine M, Samama MM, Elalamy I. 2010. Response variability to aspirin and one-year prediction of vascular events in patients with stable coronary artery disease. *J Thromb Thrombolysis*, 29(1):108-113.
- Aggarwal A, Kabbani SS, Rimmer JM, Gennari FJ, Taatjes DJ, Sobel BE, Schneider DJ. 2002. Biphasic effects of hemodialysis on platelet reactivity in patients with end-stage renal disease: a potential contributor to cardiovascular risk. *Am J Kidney Dis*, 40(2):315-322.
- Ajjan R, Storey RF, Grant PJ. 2008. Aspirin resistance and diabetes mellitus. *Diabetologia*, 51(3):385-390.
- Alberts MJ, Bergman DL, Molner E, Jovanovic BD, Ushiwata I, Teruya J. 2004. Antiplatelet effect of aspirin in patients with cerebrovascular disease. *Stroke*, 35(1):175-178.
- Aleil B, Rochoux G, Monassier J, Cazenave J, Gachet C. 2007. Ticlopidine could be an alternative therapy in the case of pharmacological resistance to clopidogrel: a report of three cases. *J Thromb Haemost*, 5(4):879-881.
- Alexander JH, Harrington RA, Tuttle RH, Berdan LG, Lincoff AM, Deckers JW, Simoons ML, Guerci A, Hochman JS, Wilcox RG, Kitt MM, Eisenberg PR, Califf RM, Topol EJ, Karsh K, Ruzyllo W, Stepinska J, Widimsky P, Boland JB, Armstrong PW. 1999. Prior aspirin use predicts worse outcomes in patients with non-ST-elevation acute coronary syndromes. PURSUIT Investigators. Platelet IIb/IIIa in Unstable angina: Receptor Suppression Using Integrilin Therapy. *Am J Cardiol*, 83(8):1147-1151.
- Anand BS, Romero JJ, Sanduja SK, Lichtenberger LM. 1999. Phospholipid association reduces the gastric mucosal toxicity of aspirin in human subjects. *Am J Gastroenterol*, 94(7):1818-1822.

- Andersen K, Hurlen M, Arnesen H, Seljeflot I. 2002. Aspirin non-responsiveness as measured by PFA-100 in patients with coronary artery disease. *Thromb Res*, 108(1):37-42.
- Andrews RK, Lopez JA, Berndt MC. 1997. Molecular mechanisms of platelet adhesion and activation. *Int J Biochem Cell Biol*, 29(1):91-105.
- Anger K, Kempfert J, Kostelka M, Mohr F, Dhein S. 2010. Platelet hyporesponsiveness to acetylsalicylic acid can be transferred by plasma in humans. *Pharmacology*, 85(4):241-247.
- Angiolillo DJ. 2009. Antiplatelet therapy in diabetes: efficacy and limitations of current treatment strategies and future directions. *Diabetes Care*, 32(4):531-540.
- Angiolillo DJ, Capodanno D, Goto S. 2010. Platelet thrombin receptor antagonism and atherothrombosis. *Eur Heart J*, 31(1):17-28.
- Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramirez C, Sabate M, Jimenez-Quevedo P, Hernandez R, Moreno R, Escaned J, Alfonso F, Banuelos C, Costa MA, Bass TA, Macaya C. 2006. Influence of aspirin resistance on platelet function profiles in patients on long-term aspirin and clopidogrel after percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol*, 97(1):38-43.
- Angiolillo DJ, Suryadevara S. 2009. Aspirin and clopidogrel: efficacy and resistance in diabetes mellitus. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 23(3):375-388.
- Antiplatelet Trialists' Collaboration. 1988. Secondary prevention of vascular disease by prolonged antiplatelet treatment. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 296(6618):320-331.
- Antiplatelet Trialists' Collaboration. 1994. Collaborative overview of randomised trials of antiplatelet therapy-I: Prevention of death, myocardial infarction, and stroke by prolonged antiplatelet therapy in various categories of patients. *BMJ*, 308(6921):81-106.
- Antiplatelet Trialists' Collaboration. 2002. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ*, 324(7329):71-86.
- Antithrombotic Trialists' (ATT) Collaboration: Baigent C, Blackwell L, Collins R, Emberson J, Godwin J, Peto R, Buring J, Hennekens C, Kearney P, Meade T, Patrono C, Roncaglioni MC, Zanchetti A. 2009. Aspirin in the primary and secondary prevention of vascular disease: collaborative meta-analysis of individual participant data from randomised trials. *Lancet*, 373(9678):1849-1860.



- Armero S, Camoin JL, Ait MO, Mancini J, Burignat-Bonello C, Tahirou I, Arques S, Dignat-George F, Paganelli F, Bonello L. 2010. Intra-individual variability in clopidogrel responsiveness in coronary artery disease patients under long term therapy. *Platelets*, [Epub ahead of print].
- Assert R, Scherk G, Bumbure A, Pirags V, Schatz H, Pfeiffer AF. 2001. Regulation of protein kinase C by short term hyperglycaemia in human platelets in vivo and in vitro. *Diabetologia*, 44(2):188-195.
- Atalar E, Haznedaroglu IC, Acil T, Ozer N, Kilic H, Ovunc K, Aksoyek S, Nazli N, Kes S, Kabakci G, Kirazli S, Ozmen F. 2003. Patients with paroxysmal atrial fibrillation but not paroxysmal supraventricular tachycardia display evidence of platelet activation during arrhythmia. *Platelets*, 14(7-8):407-411.
- Awtry EH, Loscalzo J. 2000. Aspirin. *Circulation*, 101(10):1206-1218.
- Baigent C, Collins R, Appleby P, Parish S, Sleight P, Peto R. 1998. ISIS-2: 10 year survival among patients with suspected acute myocardial infarction in randomised comparison of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither. The ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. *BMJ*, 316(7141):1337-1343.
- Baker CS, Hall RJ, Evans TJ, Pomerance A, Maclouf J, Creminon C, Yacoub MH, Polak JM. 1999. Cyclooxygenase-2 is widely expressed in atherosclerotic lesions affecting native and transplanted human coronary arteries and colocalizes with inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine particularly in macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 19(3):646-655.
- Barnett H, Burrill P, Iheanacho I. 2010. Don't use aspirin for primary prevention of cardiovascular disease. *BMJ*, 340(2):920-922.
- Basu S. 2004. Isoprostanes: novel bioactive products of lipid peroxidation. *Free Radic Res*, 38(2):105-122.
- Bau J, Gutensohn K, Kuck KH, Beythien C, Stein J, Kuhn P. 2000. Flow-cytometric analysis of platelet activation during rotablation. *Z Kardiol*, 89(1):15-20.
- Becker DM, Segal J, Vaidya D, Yanek LR, Herrera-Galeano JE, Bray PF, Moy TF, Becker LC, Faraday N. 2006. Sex differences in platelet reactivity and response to low-dose aspirin therapy. *JAMA*, 295(12):1420-1427.

- Bednar F, Osmancik P, Hlavicka J, Jedlickova V, Paluch Z, Vanek T. 2009. Aspirin is insufficient in inhibition of platelet aggregation and thromboxane formation early after coronary artery bypass surgery. *J Thromb Thrombolysis*, 27(4):394-399.
- Bemis J, Rigney J, Sosin A, Deane N. 1977. Enhanced platelet aggregation in chronic renal failure patients receiving hemodialysis treatment. *Trans Am Soc Artif Intern Organs*, 23(1):48-53.
- Benedek IH, Joshi AS, Pieniaszek HJ, King SY, Kornhauser DM. 1995. Variability in the pharmacokinetics and pharmacodynamics of low dose aspirin in healthy male volunteers. *J Clin Pharmacol*, 35(12):1181-1186.
- Bennett D, Yan B, Macgregor L, Eccleston D, Davis SM. 2008. A pilot study of resistance to aspirin in stroke patients. *J Clin Neurosci*, 15(11):1204-1209.
- Berenbaum F. 2004. COX-3: fact or fancy?. *Joint Bone Spine*, 71(6):451-453.
- Beres BJ, Toth-Zsomboki E, Vargova K, Laszlo A, Masszi T, Kerecsen G, Preda I, Kiss RG. 2008. Analysis of platelet alpha2-adrenergic receptor activity in stable coronary artery disease patients on dual antiplatelet therapy. *Thromb Haemost*, 100(5):829-838.
- Bertrand ME, Legrand V, Boland J, Fleck E, Bonnier J, Emmanuelson H, Vrolix M, Missault L, Chierchia S, Casaccia M, Niccoli L, Oto A, White C, Webb-Peploe M, Van Belle E, McFadden EP. 1998. Randomized multicenter comparison of conventional anticoagulation versus antiplatelet therapy in unplanned and elective coronary stenting. The full anticoagulation versus aspirin and ticlopidine (fantastic) study. *Circulation*, 98(16):1597-1603.
- Bertrand ME, Rupprecht HJ, Urban P, Gershlick AH. 2000. Double-blind study of the safety of clopidogrel with and without a loading dose in combination with aspirin compared with ticlopidine in combination with aspirin after coronary stenting : the clopidogrel aspirin stent international cooperative study (CLASSICS). *Circulation*, 102(6):624-629.
- Bhatt D, Topol E. 2003. Scientific and therapeutic advances in antiplatelet therapy. *Nature Rev Drug Discov*, 2(1):15-28.
- Bhatt DL, Flather MD, Hacke W, Berger PB, Black HR, Boden WE, Cacoub P, Cohen EA, Creager MA, Easton JD, Hamm CW, Hankey GJ, Johnston SC, Mak K, Mas J, Montalescot G, Pearson TA, Steg PG, Steinhubl SR, Weber MA, Fabry-Ribaud L,

- Hu T, Topol EJ, Fox KAA. 2007. Patients with prior myocardial infarction, stroke, or symptomatic peripheral arterial disease in the CHARISMA trial. *J Am Coll Cardiol*, 49(19):1982-1988.
- Bhatt DL, Fox KAA, Hacke W, Berger PB, Black HR, Boden WE, Cacoub P, Cohen EA, Creager MA, Easton JD, Flather MD, Haffner SM, Hamm CW, Hankey GJ, Johnston SC, Mak K, Mas J, Montalescot G, Pearson TA, Steg PG, Steinhubl SR, Weber MA, Brennan DM, Fabry-Ribaud L, Booth J, Topol EJ. 2006. Clopidogrel and aspirin versus aspirin alone for the prevention of atherothrombotic events. *N Engl J Med*, 354(16):1706-1717.
- Bhatt DL, Topol EJ. 2004. Clopidogrel added to aspirin versus aspirin alone in secondary prevention and high-risk primary prevention: rationale and design of the Clopidogrel for High Atherothrombotic Risk and Ischemic Stabilization, Management, and Avoidance (CHARISMA) trial. *Am Heart J*, 148(2):263-268.
- Bigalke B, Lindemann S, Ehlers R, Seizer P, Daub K, Langer H, Schonberger T, Kremmer E, Siegel-Axel D, May AE, Gawaz M. 2006. Expression of platelet collagen receptor glycoprotein VI is associated with acute coronary syndrome. *Eur Heart J*, 27(18):2165-2169.
- Bigalke B, Stellos K, Stakos D, Joos T, Potz O, Geisler T, Bischofs C, Kremmer E, Kramer BF, Seizer P, May AE, Lindemann S, Gawaz M. 2009. Influence of platelet count on the expression of platelet collagen receptor glycoprotein VI (GPVI) in patients with acute coronary syndrome. *Thromb Haemost*, 101(5):911-915.
- Bizzozzero G. 1882. Ueber einen neuen Formbestandteil des Blutes und dessen Rolle bei der Thrombose und Blutgerinnung. *Virchows Arch Pathol Anat*, 90():261-332.
- Blais N, Pharand C, Lordkipanidze M, Sia YK, Merhi Y, Diodati JG. 2009. Response to aspirin in healthy individuals. Cross-comparison of light transmission aggregometry, VerifyNow system, platelet count drop, thromboelastography (TEG) and urinary 11-dehydrothromboxane B(2). *Thromb Haemost*, 102(2):404-411.
- Boden W, Flather M, Bhatt D. 2010. Role of Dual Antiplatelet Therapy in Symptomatic Patients with Established Vascular Disease: Putting the CHARISMA Trial into Therapeutic Perspective. *Cardiovasc Drugs Ther*, [Epub ahead of print].
- Boos CJ, Balakrishnan B, Lip GYH. 2008. The effects of coronary artery disease severity on time-dependent changes in platelet activation indices in stored whole blood. *J Thromb Thrombolysis*, 25(2):135-140.

- Bordeaux BC, Qayyum R, Yanek LR, Vaidya D, Becker LC, Faraday N, Becker DM. 2010. Effect of obesity on platelet reactivity and response to low-dose aspirin. *Prev Cardiol*, 13(2):56-62.
- Born GVR. 1962. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*, 194(4832):927-929.
- Borna C, Lazarowski E, van Heusden C, Öhlin H, Erlinge D. 2005. Resistance to aspirin is increased by ST-elevation myocardial infarction and correlates with adenosine diphosphate levels. *Thromb J*, 3(1):10.
- Bouchard BA, Tracy PB. 2001. Platelets, leukocytes, and coagulation. *Curr Opin Hematol*, 8(5):263-269.
- Bowbrick VA, Mikhailidis DP, Stansby G. 2003. Influence of platelet count and activity on thromboelastography parameters. *Platelets*, 14(4):219-224.
- Brambilla M, Parolari A, Camera M, Colli S, Eligini S, Centenaro C, Anselmo A, Alamanni F, Tremoli E. 2010. Effect of two doses of aspirin on thromboxane biosynthesis and platelet function in patients undergoing coronary surgery. *Thromb Haemost*, 103(3):516-524.
- Brand K, Page S, Rogler G, Bartsch A, Brandl R, Knuechel R, Page M, Kaltschmidt C, Baeuerle PA, Neumeier D. 1996. Activated transcription factor nuclear factor-kappa B is present in the atherosclerotic lesion. *J Clin Invest*, 97(7):1715-1722.
- Brandt JT, Payne CD, Wiviott SD, Weerakkody G, Farid NA, Small DS, Jakubowski JA, Naganuma H, Winters KJ. 2007. A comparison of prasugrel and clopidogrel loading doses on platelet function: magnitude of platelet inhibition is related to active metabolite formation. *Am Heart J*, 153(1):66.e9-16.
- Breiddin K, Loew D, Lechner K, Oberla K, Walter E. 1980. The German-Austrian aspirin trial: a comparison of acetylsalicylic acid, placebo and phenprocoumon in secondary prevention of myocardial infarction. On behalf of the German-Austrian Study Group [abstract]. In: *Proceedings of the Workshop on platelet-active drugs in the secondary prevention of cardiovascular events*. National Institutes of Health. Bethesda, Maryland: *Circulation*, 62(6 Pt 2):V63-72.
- Bretschneider E, Glusa E, Schrör K. 1994. ADP-, PAF- and adrenaline-induced platelet aggregation and thromboxane formation are not affected by a thromboxane receptor antagonist at physiological external  $Ca^{++}$  concentrations. *Thromb Res*, 75(3):233-242.

- Bridges JM, Dalby AM, Millar JH, Weaver JA. 1965. An Effect Of D-Glucose On Platelet Stickiness. *Lancet*, 1(7376):75-77.
- Buchanan MR. 2006. Biological basis and clinical implications of acetylsalicylic acid resistance. *Can J Cardiol*, 22(2):149-151.
- Buchanan MR, Brister SJ. 1995. Individual variation in the effects of ASA on platelet function: implications for the use of ASA clinically. *Can J Cardiol*, 11(3):221-227.
- Burch JW, Stanford N, Majerus PW. 1978. Inhibition of platelet prostaglandin synthetase by oral aspirin. *J Clin Invest*, 61(2):314-319.
- Burke J, Kraft WK, Greenberg HE, Gleave M, Pitari GM, VanBuren S, Wagner JA, Waldman SA. 2003. Relationship of arachidonic acid concentration to cyclooxygenase-dependent human platelet aggregation. *J Clin Pharmacol*, 43(9):983-989.
- Cairns JA, Gent M, Singer J, Finnie KJ, Froggatt GM, Holder DA, Jablonsky G, Kostuk WJ, Melendez LJ, Myers MG. 1985. Aspirin, sulfinpyrazone, or both in unstable angina. Results of a Canadian multicenter trial. *N Engl J Med*, 313(22):1369-1375.
- CAST (Chinese Acute Stroke Trial) Collaborative Group, Chen ZM. 1997. CAST: randomised placebo-controlled trial of early aspirin use in 20,000 patients with acute ischaemic stroke. *Lancet*, 349(9066):1641-1649.
- Castillo R, Lozano T, Escolar G, Revert L, Lopez J, Ordinas A. 1986. Defective platelet adhesion on vessel subendothelium in uremic patients. *Blood*, 68(2):337-342.
- Catella-Lawson F, Reilly MP, Kapoor SC, Cucchiara AJ, DeMarco S, Tournier B, Vyas SN, FitzGerald GA. 2001. Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. *N Engl J Med*, 345(25):1809-1817.
- Cattaneo M. 2004. Aspirin and clopidogrel: efficacy, safety, and the issue of drug resistance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 24(11):1980-1987.
- Cattaneo M. 2007. Laboratory detection of 'aspirin resistance': what test should we use (if any)? *Eur Heart J*, 28(14):1673-1675.
- Cecchi E, Marcucci R, Panicia R, Bandinelli B, Valente S, Giglioli C, Lazzeri C, Gensini GF, Abbate R, Mannini L. 2009. Effect of blood hematocrit and erythrocyte deformability on adenosine 5'-diphosphate platelet reactivity in patients with acute coronary syndromes on dual antiplatelet therapy. *Am J Cardiol*, 104(6):764-768.

- Chakroun T, Gerotziafas G, Robert F, Lecrubier C, Samama MM, Hatmi M, Elalamy I. 2004. In vitro aspirin resistance detected by PFA-100 closure time: pivotal role of plasma von Willebrand factor. *Br J Haematol*, 124(1):80-85.
- Chamorro A, Escolar G, Revilla M, Obach V, Vila N, Reverter JC, Ordinas A. 1999. Ex vivo response to aspirin differs in stroke patients with single or recurrent events: a pilot study. *J Neurol Sci*, 171(2):110-114.
- Chen W, Cheng X, Lee P, Ng W, Kwok JY, Tse H, Lau C. 2007. Aspirin resistance and adverse clinical events in patients with coronary artery disease. *Am J Med*, 120(7):631-635.
- Chen W, Lee P, Ng W, Tse H, Lau C. 2004. Aspirin resistance is associated with a high incidence of myonecrosis after non-urgent percutaneous coronary intervention despite clopidogrel pretreatment. *J Am Coll Cardiol*, 43(6):1122-1126.
- Chesebro J, Webster M, Reeder G, Mock M, Grill D, Bailey K, Streichen S, Fuster V. 1989. Coronary angioplasty: antiplatelet therapy reduces acute complications but not restenosis. *Circulation*, 80(2):II-64.
- Christiaens L, Macchi L, Herpin D, Coisne D, Duplantier C, Allal J, Mauco G, Brizard A. 2002. Resistance to aspirin in vitro at rest and during exercise in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Thromb Res*, 108(2-3):115-119.
- Chu JW, Wong C, Chambers J, Wout JV, Herbison P, Tang EW. 2010. Aspirin resistance determined from a bed-side test in patients suspected to have acute coronary syndrome portends a worse 6 months outcome. *QJM*, 103(6):405-412.
- Chung I, Lip GYH. 2006. Platelets and heart failure. *Eur Heart J*, 27(22):2623-2631.
- Cipollone F, Ciabattoni G, Patrignani P, Pasquale M, Di Gregorio D, Bucciarelli T, Davi G, Cuccurullo F, Patrono C. 2000. Oxidant stress and aspirin-insensitive thromboxane biosynthesis in severe unstable angina. *Circulation*, 102(9):1007-1013.
- Cipollone F, Toniato E, Martinotti S, Fazia M, Iezzi A, Cuccurullo C, Pini B, Ursi S, Vitullo G, Aversa M, Arca M, Montali A, Campagna F, Uchino S, Spigonardo F, Taddei S, Virdis A, Ciabattoni G, Notarbartolo A, Cuccurullo F, Mezzetti A. 2004. A polymorphism in the cyclooxygenase 2 gene as an inherited protective factor against myocardial infarction and stroke. *JAMA*, 291(18):2221-2228.
- Cleland JGF, Poole-Wilson P. 1996. Is aspirin safe in heart failure? More data. *Heart*, 75(4):426.

- Cleland JGF. 2002a. Is aspirin "the weakest link" in cardiovascular prophylaxis? The surprising lack of evidence supporting the use of aspirin for cardiovascular disease. *Prog Cardiovasc Dis*, 44(4):275-292.
- Cleland JGF. 2002b. Preventing atherosclerotic events with aspirin. *BMJ*, 324(7329):103-105.
- Cleland JGF. 2006. Chronic aspirin therapy for the prevention of cardiovascular events: a waste of time, or worse? *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*, 3(5):234-235.
- Cleland JGF, Findlay I, Jafri S, Sutton G, Falk R, Bulpitt C, Prentice C, Ford I, Trainer A, Poole-Wilson PA. 2004. The Warfarin/Aspirin Study in Heart failure (WASH): a randomized trial comparing antithrombotic strategies for patients with heart failure. *Am Heart J*, 148(1):157-164.
- Clemetson KJ, Clemetson JM. 1995. Platelet GPIIb-V-IX complex. Structure, function, physiology, and pathology. *Semin Thromb Hemost*, 21(2):130-136.
- Coban E, Ozdogan M, Yazicioglu G, Akcıt F. 2005. The mean platelet volume in patients with obesity. *Int J Clin Pract*, 59(8):981-982.
- Cohen HW, Crandall JP, Hailpern SM, Billett HH. 2008. Aspirin resistance associated with HbA1c and obesity in diabetic patients. *J Diabetes Complications*, 22(3):224-228.
- Cohen LS. 1976. Clinical pharmacology of acetylsalicylic acid. *Semin Thromb Hemost*, 2(3):146-175.
- Cohen M, Adams P, McBride R, Blanke H, Fuster VV. 1997. Prospective Comparison of Patient Characteristics and Outcome of Non-prior Aspirin Users versus Aspirin Users with Unstable Angina or Non-Q-Wave Myocardial Infarction Treated with Combination Antithrombotic Therapy. *J Thromb Thrombolysis*, 4(2):275-280.
- Cotter G, Shemesh E, Zehavi M, Dinur I, Rudnick A, Milo O, Vered Z, Krakover R, Kaluski E, Kornberg A. 2004. Lack of aspirin effect: aspirin resistance or resistance to taking aspirin? *Am Heart J*, 147(2):293-300.
- Coughlin SR. 2005. Protease-activated receptors in hemostasis, thrombosis and vascular biology. *J Thromb Haemost*, 3(8):1800-1814.
- Cox D, Maree AO, Dooley M, Conroy R, Byrne MF, Fitzgerald DJ. 2006. Effect of enteric coating on antiplatelet activity of low-dose aspirin in healthy volunteers. *Stroke*, 37(8):2153-2158.

- Crescente M, Di Castelnuovo A, Iacoviello L, Vermeylen J, Cerletti C, de Gaetano G. 2008. Response variability to aspirin as assessed by the platelet function analyzer (PFA)-100. A systematic review. *Thromb Haemost*, 99(1):14-26.
- Cuisset T, Frere C, Quilici J, Barbou F, Morange PE, Hovasse T, Bonnet J, Alessi M. 2006. High post-treatment platelet reactivity identified low-responders to dual antiplatelet therapy at increased risk of recurrent cardiovascular events after stenting for acute coronary syndrome. *J Thromb Haemost*, 4(3):542-549.
- Cuisset T, Frere C, Quilici J, Gaborit B, Bali L, Poyet R, Faille D, Morange PE, Alessi M, Bonnet J. 2009. Aspirin noncompliance is the major cause of "aspirin resistance" in patients undergoing coronary stenting. *Am Heart J*, 157(5):889-893.
- Curtis JP, Wang Y, Portnay EL, Masoudi FA, Havranek EP, Krumholz HM. 2003. Aspirin, ibuprofen, and mortality after myocardial infarction: retrospective cohort study. *BMJ*, 327(7427):1322-1323.
- Cutlip DE, Leon MB, Ho KK, Gordon PC, Giambartolomei A, Diver DJ, Lasorda DM, Williams DO, Fitzpatrick MM, Desjardin A, Popma JJ, Kuntz RE, Baim DS. 1999. Acute and nine-month clinical outcomes after "suboptimal" coronary stenting: results from the STent Anti-thrombotic Regimen Study (STARS) registry. *J Am Coll Cardiol*, 34(3):698-706.
- Davi G, Aversa M, Catalano I, Barbagallo C, Ganci A, Notarbartolo A, Ciabattoni G, Patrono C. 1992. Increased thromboxane biosynthesis in type IIa hypercholesterolemia. *Circulation*, 85(5):1792-1798.
- Davi G, Catalano I, Aversa M, Notarbartolo A, Strano A, Ciabattoni G, Patrono C. 1990. Thromboxane biosynthesis and platelet function in type II diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 322(25):1769-1774.
- Davi G, Gresele P, Violi F, Basili S, Catalano M, Giammarresi C, Volpato R, Nenci GG, Ciabattoni G, Patrono C. 1997. Diabetes mellitus, hypercholesterolemia, and hypertension but not vascular disease per se are associated with persistent platelet activation in vivo. Evidence derived from the study of peripheral arterial disease. *Circulation*, 96(1):69-75.
- Davie AP, Love MP, McMurray JJ. 2000. Even low-dose aspirin inhibits arachidonic acid-induced vasodilation in heart failure. *Clin Pharmacol Ther*, 67(5):530-537.



- Davis JW, Hartman CR, Lewis HDJ, Shelton L, Eigenberg DA, Hassanein KM, Hignite CE, Ruttinger HA. 1985. Cigarette smoking-induced enhancement of platelet function: lack of prevention by aspirin in men with coronary artery disease. *J Lab Clin Med*, 105(4):479-483.
- Dawson J, Quinn T, Rafferty M, Higgins P, Ray G, Lees K, Walters M. 2010. Aspirin Resistance and Compliance with Therapy. *Cardiovasc Ther*, [Epub ahead of print].
- De Luca G, Santagostino M, Secco GG, Cassetti E, Giuliani L, Franchi E, Coppo L, Iorio S, Venegoni L, Rondano E, Dell'Era G, Rizzo C, Pergolini P, Monaco F, Bellomo G, Marino P. 2009. Mean platelet volume and the extent of coronary artery disease: results from a large prospective study. *Atherosclerosis*, 206(1):292-297.
- Deguchi N, Ohigashi T, Tazaki H, Handa M, Ikeda Y. 1991. Haemodialysis and platelet activation. *Nephrol Dial Transplant*, 6(Suppl 2):40-42.
- Desideri G, Ferri C. 2003. Effects of obesity and weight loss on soluble CD40L levels. *JAMA*, 289(14):1781-1782.
- Diacovo TG, Puri KD, Warnock R A, Springer T A, von Andrian U H. 1996. Platelet-mediated lymphocyte delivery to high endothelial venules. *Science*, 273(5272):252-255.
- Diehl P, Nagy F, Sossong V, Helbing T, Beyersdorf F, Olschewski M, Bode C, Moser M. 2008. Increased levels of circulating microparticles in patients with severe aortic valve stenosis. *Thromb Haemost*, 99(4):711-719.
- Eibl N, Krugluger W, Streit G, Schratlbauer K, Hopmeier P, Schernthaner G. 2004. Improved metabolic control decreases platelet activation markers in patients with type-2 diabetes. *Eur J Clin Invest*, 34(3):205-209.
- Eichengrün A. 1949. 50 Jahre Aspirin. *Die Pharmazie*, 4(12):582-584.
- Eikelboom JW, Hirsh J, Weitz JI, Johnston M, Yi Q, Yusuf S. 2002. Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. *Circulation*, 105(14):1650-1655.
- Ellison N, Edmunds LHJ, Colman RW. 1978. Platelet aggregation following heparin and protamine administration. *Anesthesiology*, 48(1):65-68.
- Elwood P. 1981. Trial of acetylsalicylic acid in the secondary prevention of mortality from myocardial infarction. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 282(6262):481.

- Elwood PC, Sweetnam PM. 1979. Aspirin and secondary mortality after myocardial infarction. *Lancet*, 314(8156-8157):1313-1315.
- Elzey BD, Tian J, Jensen R J, Swanson AK, Lees JR, Lentz SR, Stein CS, Nieswandt B, Wang Y, Davidson BL, Ratliff TL. 2003. Platelet-mediated modulation of adaptive immunity. A communication link between innate and adaptive immune compartments. *Immunity*, 19(1):9-19.
- Ertugrul DT, Tatal E, Yildiz M, Akin O, Yalcin AA, Ure OS, Yilmaz H, Yavuz B, Deveci OS, Ata N, Kucukazman M. 2010. Aspirin resistance is associated with glycemic control, the dose of aspirin, and obesity in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*, 95(6):2897-2901.
- European Atrial Fibrillation Trial Study Group. 1995. Optimal oral anticoagulation therapy in patients with nonrheumatic atrial fibrillation and recent cerebral ischemia. *N Engl J Med*, 333(1):5-10.
- Falanga A, Ofosu FA, Delaini F, Oldani E, Dewar L, Lui L, Barbui T. 1994. The hypercoagulable state in cancer patients: evidence for impaired thrombin inhibitions. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 5(Suppl 1):S19-23; discussion 59-64.
- Farrell B, Godwin J, Richards S, Warlow C. 1991. The United Kingdom transient ischaemic attack (UK-TIA) aspirin trial: final results. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 54(12):1044-1054.
- Farrell T, Hayes K, Tracey, PB, Sobel, BE, Schneider D. 1998. Unexpected, discordant effects of aspirin on platelet reactivity [abstract]. *J Am Coll Cardiol*, 31(Suppl 1):352A.
- Fateh-Moghadam S, Plockinger U, Cabeza N, Htun P, Reuter T, Ersel S, Gawaz M, Dietz R, Bocksch W. 2005. Prevalence of aspirin resistance in patients with type 2 diabetes. *Acta Diabetol*, 42(2):99-103.
- Feher G, Feher A, Pusch G, Lupkovics G, Szapary L, Papp E. 2009. The genetics of antiplatelet drug resistance. *Clin Genet*, 75(1):1-18.
- Fitzgerald DJ, Roy L, Catella F, FitzGerald GA. 1986. Platelet activation in unstable coronary disease. *N Engl J Med*, 315(16):983-989.
- FitzGerald GA. 1991. Mechanisms of platelet activation: thromboxane A<sub>2</sub> as an amplifying signal for other agonists. *Am J Cardiol*, 68(7):11B-15B.

- Fitzgerald L, Philips D. 1987. Platelet membrane glycoproteins. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW, eds, Hrsg. Hemostasis and thrombosis: basic principles and clinical practice. 2nd. Philadelphia: J.B. Lippincott, 572-593.
- Fong J, Cheng-Ching E, Hussain M, Katzan I, Gupta R. 2010. Predictors of Biochemical Aspirin and Clopidogrel Resistance in Patients With Ischemic Stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, [Epub ahead of print].
- Fox JE. 1993. The platelet cytoskeleton. *Thromb Haemost*, 70(6):884-893.
- Frelinger AL, Li Y, Linden MD, Tarnow I, Barnard MR, Fox ML, Michelson AD. 2008. Aspirin 'resistance': role of pre-existent platelet reactivity and correlation between tests. *J Thromb Haemost*, 6(12):2035-2044.
- Frelinger AL<sup>3</sup>, Li Y, Linden MD, Barnard MR, Fox ML, Christie DJ, Furman MI, Michelson AD. 2009. Association of cyclooxygenase-1-dependent and -independent platelet function assays with adverse clinical outcomes in aspirin-treated patients presenting for cardiac catheterization. *Circulation*, 120(25):2586-2596.
- Friend M, Vucenik I, Miller M. 2003. Research pointers: Platelet responsiveness to aspirin in patients with hyperlipidaemia. *BMJ*, 326(7380):82-83.
- Frossard M, Fuchs I, Leitner JM, Hsieh K, Vlcek M, Losert H, Domanovits H, Schreiber W, Laggner AN, Jilma B. 2004. Platelet function predicts myocardial damage in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*, 110(11):1392-1397.
- Fuchs I, Frossard M, Spiel A, Riedmuller E, Laggner AN, Jilma B. 2006. Platelet function in patients with acute coronary syndrome (ACS) predicts recurrent ACS. *J Thromb Haemost*, 4(12):2547-2552.
- Furie B, Furie BC. 1992. Molecular and cellular biology of blood coagulation. *N Engl J Med*, 326(12):800-806.
- Furie B, Furie BC. 2008. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med*, 359(9):938-949.
- Furman MI, Barnard MR, Krueger LA, Fox ML, Shilale EA, Lessard DM, Marchese P, Frelinger AL<sup>3</sup>, Goldberg RJ, Michelson AD. 2001. Circulating monocyte-platelet aggregates are an early marker of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*, 38(4):1002-1006.
- Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. 1992. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (1). *N Engl J Med*, 326(4):242-250.

- Fuster V, Badimon L, Cohen M, Ambrose JA, Badimon JJ, Chesebro J. 1988. Insights into the pathogenesis of acute ischemic syndromes. *Circulation*, 77(6):1213-1220.
- Gailani D, Broze GJJ. 1991. Factor XI activation in a revised model of blood coagulation. *Science*, 253(5022):909-912.
- Gawaz M. 1999. Das Blutplättchen: Physiologie, Pathophysiologie, Membranrezeptoren, antithrombozytäre Wirkstoffe und antithrombozytäre Therapie bei koronarer Herzerkrankung. Erste Auflage. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.
- Gawaz M, Loftus JC, Bajt ML, Frojmovic MM, Plow EF, Ginsberg MH. 1991. Ligand bridging mediates integrin alpha IIb beta 3 (platelet GPIIB-IIIa) dependent homotypic and heterotypic cell-cell interactions. *J Clin Invest*, 88(4):1128-1134.
- Gawaz M, Neumann FJ, Dickfeld T, Koch W, Laugwitz KL, Adelsberger H, Langenbrink K, Page S, Neumeier D, Schomig A, Brand K. 1998. Activated platelets induce monocyte chemotactic protein-1 secretion and surface expression of intercellular adhesion molecule-1 on endothelial cells. *Circulation*, 98(12):1164-1171.
- Gawaz M, Neumann FJ, Ott I, May A, Schomig A. 1996a. Platelet activation and coronary stent implantation. Effect of antithrombotic therapy. *Circulation*, 94(3):279-285.
- Gawaz M, Neumann FJ, Ott I, May A, Rudiger S, Schomig A. 1996b. Changes in membrane glycoproteins of circulating platelets after coronary stent implantation. *Heart*, 76(2):166-172.
- Gawaz M, Neumann FJ, Ott I, Schiessler A, Schomig A. 1996c. Platelet function in acute myocardial infarction treated with direct angioplasty. *Circulation*, 93(2):229-237.
- Geisler T, Gawaz M. 2008. Resistance to Antiplatelet Substances - a Real Clinical Problem. *Herz*, 33(4):260-268.
- Gewirtz AM, Poncz M. 1991. Megakaryocytopoiesis and platelet function. In: Hoffmann R, Benz EJJ, Shattil SJ, Hrsg. *Hematology, Basic Principles and Practice*. New York: Churchill-Livingstone: 1148-1157.

- Gibbs CR, Blann AD, Watson RD, Lip GY. 2001. Abnormalities of hemorheological, endothelial, and platelet function in patients with chronic heart failure in sinus rhythm: effects of angiotensin-converting enzyme inhibitor and beta-blocker therapy. *Circulation*, 103(13):1746-1751.
- Girolami B, Prandoni P, Stefani PM, Tanduo C, Sabbion P, Eichler P, Ramon R, Baggio G, Fabris F, Girolami A. 2003. The incidence of heparin-induced thrombocytopenia in hospitalized medical patients treated with subcutaneous unfractionated heparin: a prospective cohort study. *Blood*, 101(8):2955-2959.
- Gladding P, Webster M, Ormiston J, Olsen S, White H. 2008. Antiplatelet drug nonresponsiveness. *Am Heart J*, 155(4):591-599.
- Gonzalez-Conejero R, Rivera J, Corral J, Acuna C, Guerrero JA, Vicente V. 2005. Biological assessment of aspirin efficacy on healthy individuals: heterogeneous response or aspirin failure? *Stroke*, 36(2):276-280.
- Gorog DA, Sweeny JM, Fuster V. 2009. Antiplatelet drug 'resistance'. Part 2: laboratory resistance to antiplatelet drugs-fact or artifact?. *Nat Rev Cardiol*, 6(5):365-373.
- Greinacher A. 2009. Heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost*, 7(Suppl 1):9-12.
- Greinacher A, Kohlmann T, Strobel U, Sheppard JJ, Warkentin TE. 2009. The temporal profile of the anti-PF4/heparin immune response. *Blood*, 113(20):4970-4976.
- Grotemeyer KH. 1991. Effects of acetylsalicylic acid in stroke patients. Evidence of nonresponders in a subpopulation of treated patients. *Thromb Res*, 63(6):587-593.
- Grotemeyer KH, Scharafinski HW, Husstedt IW. 1993. Two-year follow-up of aspirin responder and aspirin non responder. A pilot-study including 180 post-stroke patients. *Thromb Res*, 71(5):397-403.
- Grundmann K, Jaschonek K, Kleine B, Dichgans J, Topka H. 2003. Aspirin non-responder status in patients with recurrent cerebral ischemic attacks. *J Neurol*, 250(1):63-66.
- Gum PA, Kottke-Marchant K, Poggio ED, Gurm H, Welsh PA, Brooks L, Sapp SK, Topol EJ. 2001. Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease. *Am J Cardiol*, 88(3):230-235.
- Gum PA, Kottke-Marchant K, Welsh PA, White J, Topol EJ. 2003. A prospective, blinded determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol*, 41(6):961-965.

- Gurbel PA, Serebruany VL, Shustov AR, Bahr RD, Carpo C, Ohman EM, Topol EJ. 1998. Effects of reteplase and alteplase on platelet aggregation and major receptor expression during the first 24 hours of acute myocardial infarction treatment. GUSTO-III Investigators. Global Use of Strategies to Open Occluded Coronary Arteries. *J Am Coll Cardiol*, 31(7):1466-1473.
- Guthikonda S, Lev EI, Patel R, DeLao T, Bergeron AL, Dong J, Kleiman NS. 2007. Reticulated platelets and uninhibited COX-1 and COX-2 decrease the antiplatelet effects of aspirin. *J Thromb Haemost*, 5(3):490-496.
- Haghani K, Shah PK, Cercek B. 1993. Unstable angina developing in patients on chronic aspirin therapy is associated with an increased risk of early adverse cardiac events [abstract]. *J Am Coll Cardiol*, 21():270A.
- Hall P, Nakamura S, Maiello L, Itoh A, Blengino S, Martini G, Ferraro M, Colombo A. 1996. A randomized comparison of combined ticlopidine and aspirin therapy versus aspirin therapy alone after successful intravascular ultrasound-guided stent implantation. *Circulation*, 93(2):215-222.
- Halushka MK, Halushka PV. 2002. Why are some individuals resistant to the cardioprotective effects of aspirin? Could it be thromboxane A2? *Circulation*, 105(14):1620-1622.
- Halushka MK, Walker LP, Halushka PV. 2003. Genetic variation in cyclooxygenase 1: effects on response to aspirin. *Clin Pharmacol Ther*, 73(1):122-130.
- Hamm CW, Arntz HR, Bode C, Giannitsis E, Katus E, Levenson B, Nordt T, Neumann FJ, Tebbe U, Zahn R. 2004a. Leitlinien: Akutes Koronarsyndrom (ACS). Teil 2: ACS mit ST-Hebung. *Zeitschrift für Kardiologie*, 93(4):324-341.
- Hamm CW, Arntz HR, Bode C, Giannitsis E, Katus E, Levenson B, Nordt T, Neumann FJ, Tebbe U, Zahn R. 2004b. Leitlinien: Akutes Koronarsyndrom (ACS). Teil 1: ACS ohne persistierende ST-Hebung. *Zeitschrift für Kardiologie*, 93(1):72-90.
- Hamm CW, Lorenz RL, Bleifeld W, Kupper W, Wober W, Weber PC. 1987. Biochemical evidence of platelet activation in patients with persistent unstable angina. *J Am Coll Cardiol*, 10(5):998-1006.
- Hankey GJ, Eikelboom JW. 2006. Aspirin resistance. *Lancet*, 367(9510):606-617.

- Harrington RA, Stone GW, McNulty S, White HD, Lincoff AM, Gibson CM, Pollack CVJ, Montalescot G, Mahaffey KW, Kleiman NS, Goodman SG, Amine M, Angiolillo DJ, Becker RC, Chew DP, French WJ, Leisch F, Parikh KH, Skerjanec S, Bhatt DL. 2009. Platelet inhibition with cangrelor in patients undergoing PCI. *N Engl J Med*, 361(24):2318-2329.
- Harrison P, Cramer EM. 1993. Platelet alpha-granules. *Blood Rev*, 7(1):52-62.
- Harrison P, Mackie I, Mathur A, Robinson MSC, Hong Y, Erusalimsky JD, Machin SJ, Martin JF. 2005. Platelet hyper-function in acute coronary syndromes. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 16(8):557-562.
- Harrison P, Segal H, Silver L, Syed A, Cuthbertson FC, Rothwell PM. 2008. Lack of reproducibility of assessment of aspirin responsiveness by optical aggregometry and two platelet function tests. *Platelets*, 19(2):119-124.
- Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, van den Brand MJ, Boersma E, Zeiher AM, Simoons ML. 2003. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N Engl J Med*, 348(12):1104-1111.
- Hekimsoy Z, Payzin B, Ornek T, Kandogan G. 2004. Mean platelet volume in Type 2 diabetic patients. *J Diabetes Complications*, 18(3):173-176.
- Helgason CM, Bolin KM, Hoff JA, Winkler SR, Mangat A, Tortorice KL, Brace LD. 1994. Development of aspirin resistance in persons with previous ischemic stroke. *Stroke*, 25(12):2331-2336.
- Hennekens CH, Schneider WR, Hebert PR, Tantry US, Gurbel PA. 2010. Hypothesis formulation from subgroup analyses: nonadherence or nonsteroidal anti-inflammatory drug use explains the lack of clinical benefit of aspirin on first myocardial infarction attributed to "aspirin resistance". *Am Heart J*, 159(5):744-748.
- Hentrich J. 2010. Häufigkeit und Profil der ASS-Resistenz bei chronischen Hämodialyse-Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden [Dissertation]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität.
- Hezard N, Metz D, Nazeyrollas P, Droulle C, Potron G, Nguyen P. 2002. PFA-100 and flow cytometry: can they challenge aggregometry to assess antiplatelet agents, other than GPIIb/IIIa blockers, in coronary angioplasty? *Thromb Res*, 108(1):43-47.
- Hobikoglu GF, Norgaz T, Aksu H, Ozer O, Erturk M, Nurkalem Z, Narin A. 2005. High frequency of aspirin resistance in patients with acute coronary syndrome. *Tohoku J Exp Med*, 207(1):59-64.

- Hoffman M, Monroe DM 3. 2001. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost*, 85(6):958-965.
- Hoffman M, Monroe DM, Roberts HR. 2002. Platelet-dependent action of high-dose factor VIIa. *Blood*, 100(1):364-5; author reply 365.
- Hughes A, McVerry BA, Wilkinson L, Goldstone AH, Lewis D, Bloom A. 1983. Diabetes, a hypercoagulable state? Hemostatic variables in newly diagnosed type 2 diabetic patients. *Acta Haematol*, 69(4):254-259.
- Hung J, Lam JY, Lacoste L, Letchacovski G. 1995. Cigarette smoking acutely increases platelet thrombus formation in patients with coronary artery disease taking aspirin. *Circulation*, 92(9):2432-2436.
- Hurlen M, Seljeflot I, Arnesen H. 1998. The effect of different antithrombotic regimens on platelet aggregation after myocardial infarction. *Scand Cardiovasc J*, 32(4):233-237.
- Hurlen M, Seljeflot I, Arnesen H. 2000. Increased platelet aggregability during exercise in patients with previous myocardial infarction. Lack of inhibition by aspirin. *Thromb Res*, 99(5):487-494.
- Inoue T, Hoshi K, Fujito T, Sakai Y, Morooka S, Sohma R. 1996. Early detection of platelet activation after coronary angioplasty. *Coron Artery Dis*, 7(7):529-534.
- International Stroke Trial Collaborative Group. 1997. The International Stroke Trial (IST): a randomised trial of aspirin, subcutaneous heparin, both, or neither among 19435 patients with acute ischaemic stroke. *Lancet*, 349(9065):1569-1581.
- ISIS (International Studies of Infarct Survival) pilot study investigation. 1987. Randomized factorial trial of high-dose intravenous streptokinase, of oral aspirin and of intravenous heparin in acute myocardial infarction. *Eur Heart J*, 8(6):634-642.
- ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. 1988. Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither among 17,187 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-2. *Lancet*, 2(8607):349-360.
- ISIS-3 (Third International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. 1992. ISIS-3: a randomised comparison of streptokinase vs tissue plasminogen activator vs anistreplase and of aspirin plus heparin vs aspirin alone among 41,299 cases of suspected acute myocardial infarction. *Lancet*, 339(8796):753-770.



- Ivandic BT, Giannitsis E, Schlick P, Staritz P, Katus HA, Hohlfield T. 2007. Determination of aspirin responsiveness by use of whole blood platelet aggregometry. *Clin Chem*, 53(4):614-619.
- Jack DB. 1997. One hundred years of aspirin. *Lancet*, 350(9075):437-439.
- Jackson SP, Nesbitt WS, Kulkarni S. 2003. Signaling events underlying thrombus formation. *J Thromb Haemost*, 1(7):1602-1612.
- Jaffe E, Weksler B. 1979. Recovery of endothelial cell prostacyclin production after inhibition by low doses of aspirin. *J Clin Invest*, 63(3):532-535.
- Jefferson BK, Foster JH, McCarthy JJ, Ginsburg G, Parker A, Kottke-Marchant K, Topol EJ. 2005. Aspirin resistance and a single gene. *Am J Cardiol*, 95(6):805-808.
- Jernberg T, Payne CD, Winters KJ, Darstein C, Brandt JT, Jakubowski JA, Naganuma H, Siegbahn A, Wallentin L. 2006. Prasugrel achieves greater inhibition of platelet aggregation and a lower rate of non-responders compared with clopidogrel in aspirin-treated patients with stable coronary artery disease. *Eur Heart J*, 27(10):1166-1173.
- Jung SM, Takemura Y, Imamura Y, Hayashi T, Adachi E, Moroi M. 2008. Collagen-type specificity of glycoprotein VI as a determinant of platelet adhesion. *Platelets*, 19(1):32-42.
- Jurk K, Kehrel BE. 2005. Platelets and the new comprehension of haemostasis. *Hämostaseologie*, 25(1):39-49.
- Juul-Moller S, Edvardsson N, Jahnmatz B, Rosen A, Sorensen S, Omblus R. 1992. Double-blind trial of aspirin in primary prevention of myocardial infarction in patients with stable chronic angina pectoris. The Swedish Angina Pectoris Aspirin Trial (SAPAT) Group. *Lancet*, 340(8833):1421-1425.
- Kamath S, Blann AD, Lip GY. 2001. Platelet activation: assessment and quantification. *Eur Heart J*, 22(17):1561-1571.
- Kamath S, Chin BSP, Blann AD, Lip GYH. 2002. A study of platelet activation in paroxysmal, persistent and permanent atrial fibrillation. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 13(7):627-636.
- Kappers-Klunne MC, Boon DM, Hop WC, Michiels JJ, Stibbe J, van der Zwaan C, Koudstaal PJ, van Vliet HH. 1997. Heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis: a prospective analysis of the incidence in patients with heart and cerebrovascular diseases. *Br J Haematol*, 96(3):442-446.

- Kashuk JL, Moore EE, Sabel A, Barnett C, Haenel J, Le T, Pezold M, Lawrence J, Biffl WL, Cothren CC, Johnson JL. 2009. Rapid thrombelastography (r-TEG) identifies hypercoagulability and predicts thromboembolic events in surgical patients. *Surgery*, 146(4):764-72; discussion 772-4.
- Kastrati A, Schuhlen H, Hausleiter J, Walter H, Zitzmann-Roth E, Hadamitzky M, Elezi S, Ulm K, Dirschinger J, Neumann FJ, Schomig A. 1997. Restenosis after coronary stent placement and randomization to a 4-week combined antiplatelet or anticoagulant therapy: six-month angiographic follow-up of the Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen (ISAR) Trial. *Circulation*, 96(2):462-467.
- Kawasaki T, Ozeki Y, Igawa, T, Kambayashi, JI. 2000. Increased platelet sensitivity to collagen in individuals resistant to low-dose aspirin. *Stroke*, 31(3):591-595.
- Keating FK, Sobel BE, Schneider DJ. 2003. Effects of increased concentrations of glucose on platelet reactivity in healthy subjects and in patients with and without diabetes mellitus. *Am J Cardiol*, 92(11):1362-1365.
- Kehrel B. 1995. Platelet-collagen interactions. *Semin Thromb Hemost*, 21(2):123-129.
- Kelton JG, Sheridan D, Santos A, Smith J, Steeves K, Smith C, Brown C, Murphy WG. 1988. Heparin-induced thrombocytopenia: laboratory studies. *Blood*, 72(3):925-930.
- Kilicli-Camur N, Demirtunc R, Konuralp C, Eskiser A, Basaran Y. 2005. Could mean platelet volume be a predictive marker for acute myocardial infarction? *Med Sci Monit*, 11(8):CR387-92.
- Kim KE, Woo KS, Goh RY, Quan ML, Cha KS, Kim MH, Han JY. 2010. Comparison of laboratory detection methods of aspirin resistance in coronary artery disease patients. *Int J Lab Hematol*, 32(1 Pt 2):50-55.
- Klimt CR, Knatterud GL, Stamler J, Meier P. 1986. Persantine-Aspirin Reinfarction Study. Part II. Secondary coronary prevention with persantine and aspirin. *J Am Coll Cardiol*, 7(2):251-269.
- Kolarov P, Tschoepe D, Nieuwenhuis HK, Gries FA, Strauer B, Schultheiss HP. 1996. PTCA: periprocedural platelet activation. Part II of the Duesseldorf PTCA platelet study (DPPS). *Eur Heart J*, 17(8):1216-1222.
- Krasopoulos G, Brister SJ, Beattie WS, Buchanan MR. 2008. Aspirin "resistance" and risk of cardiovascular morbidity: systematic review and meta-analysis. *BMJ*, 336(7637):195-198.

- Kratzer MAA, Bellucci S, Caen JP. 1985. Detection of Abnormal Platelet Function with an in vitro Model of Primary Hemostasis. *Haemostasis*, 15(6):363-370.
- Kratzer MAA, Born GVR. 1985. Stimulation of Primary Hemostasis in Vitro. *Haemostasis*, 5(6):357-362.
- Kuliczkowski W, Witkowski A, Polonski L, Watala C, Filipiak K, Budaj A, Golanski J, Sitkiewicz D, Pregowski J, Gorski J, Zembala M, Opolski G, Huber K, Arnesen H, Kristensen SD, De Caterina R. 2009. Interindividual variability in the response to oral antiplatelet drugs: a position paper of the Working Group on antiplatelet drugs resistance appointed by the Section of Cardiovascular Interventions of the Polish Cardiac Society, endorsed by the Working Group on Thrombosis of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*, 30(4):426-435.
- Kundu S, Heilmann E, Sio R, Garcia C, Ostgaard R. 1996. Characterization of an in vitro platelet function analyzer, PFA-100. *Clin appl Thromb Hemost*, 2(4):241-249.
- Landolfi R, Storti S, Sacco F, Scribano D, Cudillo L, Leone G. 1984. Platelet activation in patients with benign and malignant ovarian diseases. *Tumori*, 70(5):459-462.
- Larsson PT, Wallen NH, Hjemdahl P. 1994. Norepinephrine-induced human platelet activation in vivo is only partly counteracted by aspirin. *Circulation*, 89(5):1951-1957.
- Lembo NJ, Black AJ, Roubin GS, Wilentz JR, Mufson LH, Douglas JSJ, King SB 3RD. 1990. Effect of pretreatment with aspirin versus aspirin plus dipyridamole on frequency and type of acute complications of percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Am J Cardiol*, 65(7):422-426.
- Lev EI, Patel RT, Maresh KJ, Guthikonda S, Granada J, DeLao T, Bray PF, Kleiman NS. 2006. Aspirin and clopidogrel drug response in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the role of dual drug resistance. *J Am Coll Cardiol*, 47(1):27-33.
- Lewis HDJ, Davis JW, Archibald DG, Steinke WE, Smitherman TC, Doherty JE3, Schnaper HW, LeWinter MM, Linares E, Pouget JM, Sabharwal SC, Chesler E, DeMots H. 1983. Protective effects of aspirin against acute myocardial infarction and death in men with unstable angina. Results of a Veterans Administration Cooperative Study. *N Engl J Med*, 309(7):396-403.
- Lievre M, Cucherat M. 2010. Aspirin in the secondary prevention of cardiovascular disease: an update of the APTC meta-analysis. *Fundam Clin Pharmacol*, 24(3):385-391.

- Lindsay RM, Moorthy AV, Koens F, Linton AL. 1975. Platelet function in dialyzed and non-dialyzed patients with chronic renal failure. *Clin Nephrol*, 4(2):52-57.
- Lip GY, Lip PL, Zarifis J, Watson RD, Bareford D, Lowe GD, Beevers DG. 1996. Fibrin D-dimer and beta-thromboglobulin as markers of thrombogenesis and platelet activation in atrial fibrillation. Effects of introducing ultra-low-dose warfarin and aspirin. *Circulation*, 94(3):425-431.
- Lippi G, Filippozzi L, Salvagno GL, Montagnana M, Franchini M, Guidi GC, Targher G. 2009. Increased mean platelet volume in patients with acute coronary syndromes. *Arch Pathol Lab Med*, 133(9):1441-1443.
- Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, Grillo RL, Rebuzzi AG, Pepys MB, Maseri A. 1994. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina. *N Engl J Med*, 331(7):417-424.
- Loh E, Sutton MS, Wun CC, Rouleau JL, Flaker GC, Gottlieb SS, Lamas GA, Moyer LA, Goldhaber SZ, Pfeffer MA. 1997. Ventricular dysfunction and the risk of stroke after myocardial infarction. *N Engl J Med*, 336(4):251-257.
- Loll PJ, Picot D, Garavito RM. 1995. The structural basis of aspirin activity inferred from the crystal structure of inactivated prostaglandin H2 synthase. *Nat Struct Biol*, 2(8):637-643.
- Lordkipanidze M, Pharand C, Palisaitis DA, Diodati JG. 2006. Aspirin resistance: truth or dare. *Pharmacol Ther*, 112(3):733-743.
- Lordkipanidze M, Pharand C, Schampaert E, Turgeon J, Palisaitis DA, Diodati JG. 2007. A comparison of six major platelet function tests to determine the prevalence of aspirin resistance in patients with stable coronary artery disease. *Eur Heart J*, 28(14):1702-1708.
- Loscalzo J. 2001. Nitric oxide insufficiency, platelet activation, and arterial thrombosis. *Circ Res*, 88(8):756-762.
- Loscalzo J. 2002. Oxidative stress in endothelial cell dysfunction and thrombosis. *Pathophysiol Haemost Thromb*, 32(5-6):359-360.
- Macchi L, Christiaens L, Brabant S, Sorel N, Allal J, Mauco G. 2002. Resistance to aspirin in vitro is associated with increased platelet sensitivity to adenosine diphosphate. *Thromb Res*, 107(1-2):45-49.

- Macchi L, Christiaens L, Brabant S, Sorel N, Ragot S, Allal J, Mauco G, Brizard A. 2003. Resistance in vitro to low-dose aspirin is associated with platelet PIA1 (GP IIIa) polymorphism but not with C807T (GP Ia/IIa) and C-5T Kozak (GP Ibalpha) polymorphisms. *J Am Coll Cardiol*, 42(6):1115-1119.
- MacDonald TM, Wei L. 2003. Effect of ibuprofen on cardioprotective effect of aspirin. *Lancet*, 361(9357):573-574.
- Mackie IJ, Neal CR. 1988. Platelet-vessel wall interactions. In: Pittilo R M, Machin S J, Hrsg. *The platelet*. Berlin, Heidelberg, London: Springer Verlag, 1-32.
- MacMahon S, Neal B, Rodgers A. 2005. Hypertension-time to move on. *Lancet*, 365(9464):1108-1109.
- Madsen EH, Schmidt EB, Maurer-Spurej E, Kristensen SR. 2008. Effects of aspirin and clopidogrel in healthy men measured by platelet aggregation and PFA-100. *Platelets*, 19(5):335-341.
- Mani H, Lindhoff-Last E. 2009. Diagnosis, causes, relevance of a complex phenomenon. Resistance to aspirin and clopidogrel. *Pharm Unserer Zeit*, 38(4):342-350.
- Manson JE, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC, Rosner B, Speizer FE, Hennekens CH. 1991. A prospective study of aspirin use and primary prevention of cardiovascular disease in women. *JAMA*, 266(4):521-527.
- Mantur M, Kemonia H, Pietruczuk M, Wasiluk A. 2002. Does renal carcinoma affect the expression of P-selectin on platelets? *Neoplasma*, 49(4):243-245.
- Maree AO, Curtin RJ, Chubb A, Dolan C, Cox D, O'Brien J, Crean P, Shields DC, Fitzgerald DJ. 2005. Cyclooxygenase-1 haplotype modulates platelet response to aspirin. *J Thromb Haemost*, 3(10):2340-2345.
- Martel N, Lee J, Wells PS. 2005. Risk for heparin-induced thrombocytopenia with unfractionated and low-molecular-weight heparin thromboprophylaxis: a meta-analysis. *Blood*, 106(8):2710-2715.
- Martin JF, Bath PM, Burr ML. 1991. Influence of platelet size on outcome after myocardial infarction. *Lancet*, 338(8780):1409-1411.
- Maseri A, Beltrame JF, Shimokawa H. 2009. Role of coronary vasoconstriction in ischemic heart disease and search for novel therapeutic targets. *Circ J*, 73(3):394-403.

- Mateos-Caceres PJ, Macaya C, Azcona L, Modrego J, Mahillo E, Bernardo E, Fernandez-Ortiz A, Lopez-Farre AJ. 2010. Different expression of proteins in platelets from aspirin-resistant and aspirin-sensitive patients. *Thromb Haemost*, 103(1):160-170.
- Mezzano D, Tagle R, Panes O, Perez M, Downey P, Munoz B, Aranda E, Barja P, Thambo S, Gonzalez F, Mezzano S, Pereira J. 1996. Hemostatic disorder of uremia: the platelet defect, main determinant of the prolonged bleeding time, is correlated with indices of activation of coagulation and fibrinolysis. *Thromb Haemost*, 76(3):312-321.
- Michelson AD. 2004. Platelet function testing in cardiovascular diseases. *Circulation*, 110(19):e489-93.
- Michelson AD, Cattaneo M, Eikelboom JW, Gurbel P, Kottke-Marchant K, Kunicki TJ, Pulcinelli FM, Cerletti C, Rao AK. 2005. Aspirin resistance: position paper of the Working Group on Aspirin Resistance. *J Thromb Haemost*, 3(6):1309-1311.
- Minamino T, Kitakaze M, Asanuma H, Ueda Y, Koretsune Y, Kuzuya T, Hori M. 1999. Plasma adenosine levels and platelet activation in patients with atrial fibrillation. *Am J Cardiol*, 83(2):194-198.
- Minuz P, Patrignani P, Gaino S, Degan M, Menapace L, Tommasoli R, Seta F, Capone ML, Tacconelli S, Palatresi S, Bencini C, Del Vecchio C, Mansueto G, Arosio E, Santonastaso CL, Lechi A, Morganti A, Patrono C. 2002. Increased oxidative stress and platelet activation in patients with hypertension and renovascular disease. *Circulation*, 106(22):2800-2805.
- Minuz P, Patrignani P, Gaino S, Seta F, Capone ML, Tacconelli S, Degan M, Faccini G, Fornasiero A, Talamini G, Tommasoli R, Arosio E, Santonastaso CL, Lechi A, Patrono C. 2004. Determinants of platelet activation in human essential hypertension. *Hypertension*, 43(1):64-70.
- Mirkhel A, Peyster E, Sundeen J, Greene L, Michelson AD, Hasan A, Domanski M. 2006. Frequency of aspirin resistance in a community hospital. *Am J Cardiol*, 98(5):577-579.
- Mizuno K, Miyamoto A, Isojima K, Kurita A, Senoo A, Arai T, Kikuchi M, Nakamura H. 1992. A serial observation of coronary thrombi in vivo by a new percutaneous transluminal coronary angioscope. *Angiology*, 43(2):91-99.
- Monroe DM, Hoffman M, Roberts HR. 2002. Platelets and thrombin generation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 22(9):1381-1389.

- Montalescot G, Wiviott SD, Braunwald E, Murphy SA, Gibson CM, McCabe CH, Antman EM. 2009. Prasugrel compared with clopidogrel in patients undergoing percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction (TRITON-TIMI 38): double-blind, randomised controlled trial. *Lancet*, 373(9665):723-731.
- Morgenstern E. 1997. Platelets morphology and ultrastructure. In: Bruchhausen FV, Walter U, Hrsg. Platelets and their factors. Handbook of experimental pharmacology. Heidelberg: Springer Verlag, 27-52.
- Morita I, Schindler M, Regier M, Otto J, Hori T, DeWitt D, Smith W. 1995. Different intracellular locations for prostaglandin endoperoxide H synthase-1 and -2. *J Biol Chem*, 270(18):10902-10908.
- Morrow DA, Scirica BM, Fox KAA, Berman G, Strony J, Veltri E, Bonaca MP, Fish P, McCabe CH, Braunwald E. 2009. Evaluation of a novel antiplatelet agent for secondary prevention in patients with a history of atherosclerotic disease: design and rationale for the Thrombin-Receptor Antagonist in Secondary Prevention of Atherothrombotic Ischemic Events (TRA 2 degrees P)-TIMI 50 trial. *Am Heart J*, 158(3):335-341.e3.
- Morrow JD, Frei B, Longmire AW, Gaziano JM, Lynch SM, Shyr Y, Strauss WE, Oates JA, Roberts LJ2. 1995. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F2-isoprostanes) in smokers. Smoking as a cause of oxidative damage. *N Engl J Med*, 332(18):1198-1203.
- Mueller MR, Salat A, Stangl P, Murabito M, Pulaki S, Boehm D, Koppensteiner R, Ergun E, Mittlboeck M, Schreiner W, Losert U, Wolner E. 1997. Variable platelet response to low-dose ASA and the risk of limb deterioration in patients submitted to peripheral arterial angioplasty. *Thromb Haemost*, 78(3):1003-1007.
- Muscari A, De Pascalis S, Cenni A, Ludovico C, Castaldini N, Antonelli S, Bianchi G, Magalotti D, Zoli M. 2008. Determinants of mean platelet volume (MPV) in an elderly population: relevance of body fat, blood glucose and ischaemic electrocardiographic changes. *Thromb Haemost*, 99(6):1079-1084.
- Nash GF, Turner LF, Scully MF, Kakkar AK. 2002. Platelets and cancer. *Lancet Oncol*, 3(7):425-430.
- Neumann FJ, Gawaz M, Ott I, May A, Mossmer G, Schomig A. 1996. Prospective evaluation of hemostatic predictors of subacute stent thrombosis after coronary Palmaz-Schatz stenting. *J Am Coll Cardiol*, 27(1):15-21.

- Newman PM, Chong BH. 2000. Heparin-induced thrombocytopenia: new evidence for the dynamic binding of purified anti-PF4-heparin antibodies to platelets and the resultant platelet activation. *Blood*, 96(1):182-187.
- Nicholson NS, Panzer-Knodle SG, Haas NF, Taite BB, Szalony JA, Page JD, Feigen LP, Lansky DM, Salyers AK. 1998. Assessment of platelet function assays. *Am Heart J*, 135(5):S170-8.
- Nierodzik ML, Klepfish A, Karpatkin S. 1995. Role of platelets, thrombin, integrin IIb-IIIa, fibronectin and von Willebrand factor on tumor adhesion in vitro and metastasis in vivo. *Thromb Haemost*, 74(1):282-290.
- Nieswandt B, Watson SP. 2003. Platelet-collagen interaction: is GPVI the central receptor? *Blood*, 102(2):449-461.
- Nieuwenhuis HK, Akkerman JW, Houdijk WP, Sixma JJ. 1985. Human blood platelets showing no response to collagen fail to express surface glycoprotein Ia. *Nature*, 318(6045):470-472.
- Nowak G. 2007. From Aspirin to Aspirin Resistance - History, Biochemical Background, Diagnostics und Clinical Relevance. *Transfus Med Hemother*, 34(6):413-419.
- Nowak G. 2009. Heparin-induced thrombocytopenia (HIT II) - a drug-associated autoimmune disease. *Thromb Haemost*, 102(5):887-891.
- Nowak G, Schumann A, Wiesenburg A, Bucha E. 2003. PADA-HIT: A new method for ultrafast detection of HIT-II-antibodies [abstract]. *Thromb Haemost*, (Suppl 1):p1166.
- Nowak G, Wiesenburg A, Schumann A, Bucha E. 2005. Platelet adhesion assay-a new quantitative whole blood test to measure platelet function. *Semin Thromb Hemost*, 31(4):470-475.
- Nowak J, Murray JJ, Oates JA, FitzGerald GA. 1987. Biochemical evidence of a chronic abnormality in platelet and vascular function in healthy individuals who smoke cigarettes. *Circulation*, 76(1):6-14.
- Nurden P. 1997. Bidirectional trafficking of membrane glycoproteins following platelet activation in suspension. *Thromb Haemost*, 78(5):1305-1315.
- Oliver JA, Monroe DM, Roberts HR, Hoffman M. 1999. Thrombin activates factor XI on activated platelets in the absence of factor XII. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 19(1):170-177.



- Ott I, Neumann FJ, Gawaz M, Schmitt M, Schomig A. 1996. Increased neutrophil-platelet adhesion in patients with unstable angina. *Circulation*, 94(6):1239-1246.
- Pamukcu B, Oflaz H, Acar RD, Umman S, Koylan N, Umman B, Nisanci Y. 2005a. The role of exercise on platelet aggregation in patients with stable coronary artery disease: exercise induces aspirin resistant platelet activation. *J Thromb Thrombolysis*, 20(1):17-22.
- Pamukcu B, Oflaz H, Nisanci Y. 2005b. The role of platelet glycoprotein IIIa polymorphism in the high prevalence of in vitro aspirin resistance in patients with intracoronary stent restenosis. *Am Heart J*, 149(4):675-680.
- Pamukcu B, Oflaz H, Oncul A, Umman B, Mercanoglu F, Ozcan M, Meric M, Nisanci Y. 2006. The role of aspirin resistance on outcome in patients with acute coronary syndrome and the effect of clopidogrel therapy in the prevention of major cardiovascular events. *J Thromb Thrombolysis*, 22(2):103-110.
- Pamukcu B, Oflaz H, Onur I, Oncul A, Umman B, Koylan N, Bugra Z, Meric M, Nisanci Y. 2007. Aspirin-resistant platelet aggregation in a cohort of patients with coronary heart disease. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 18(5):461-465.
- Pappas JM, Westengard JC, Bull BS. 1994. Population variability in the effect of aspirin on platelet function. Implications for clinical trials and therapy. *Arch Pathol Lab Med*, 118(8):801-804.
- Patrignani P. 2003. Aspirin insensitive eicosanoid biosynthesis in cardiovascular disease. *Thromb Res*, 110(5-6):281-286.
- Patrono C. 1994. Aspirin as an antiplatelet drug. *N Engl J Med*, 330(18):1287-1294.
- Patrono C. 2003. Aspirin resistance: definition, mechanisms and clinical read-outs. *J Thromb Haemost*, 1(8):1710-1713.
- Patrono C, Bachmann F, Baigent C, Bode C, De Caterina R, Charbonnier B, Fitzgerald D, Hirsh J, Husted S, Kvasnicka J, Montalescot G, Garcia Rodriguez LA, Verheugt F, Vermylen J, Wallentin L, Priori SG, Alonso Garcia MA, Blanc JJ, Budaj A, Cowie M, Dean V, Deckers J, Fernandez Burgos E, Lekakis J, Lindahl B, Mazzotta G, Morais J, Oto A, Smiseth OA, Morais J, Deckers J, Ferreira R, Mazzotta G, Steg PG, Teixeira F, Wilcox R. 2004. Expert consensus document on the use of antiplatelet agents. The task force on the use of antiplatelet agents in patients with atherosclerotic cardiovascular disease of the European society of cardiology. *Eur Heart J*, 25(2):166-181.

- Patrono C, Ciabattini G, Patrignani P, Pugliese F, Fillabozzi P, Catella F, Davi G, Forni L. 1985. Clinical pharmacology of platelet cyclooxygenase inhibition. *Circulation*, 72(6):1177-1184.
- Patrono C, Collar B, Dalen J, Fuster V, Gent M, Harker L, Hirsh J, Roth G. 1998. Platelet-active drugs: the relationship among dose, effectiveness, and side effects. *Chest*, 114(Suppl 5):470S-488S.
- Patrono C, Garcia Rodriguez LA, Landolfi R, Baigent C. 2005. Low-dose aspirin for the prevention of atherothrombosis. *N Engl J Med*, 353(22):2373-2383.
- Pedersen AK, FitzGerald GA. 1984. Dose related kinetics of aspirin: presystemic acetylation of platelet cyclooxygenase. *N Engl J Med*, 311(19):1206-1211.
- Petersen P, Boysen G, Godtfredsen J, Andersen ED, Andersen B. 1989. Placebo-controlled, randomised trial of warfarin and aspirin for prevention of thromboembolic complications in chronic atrial fibrillation. The Copenhagen AFASAK study. *Lancet*, 1(8631):175-179.
- Peto R, Gray R, Collins R, Wheatley K, Hennekens C, Jamrozik K, Warlow C, Hafner B, Thompson E, Norton S. 1988. Randomised trial of prophylactic daily aspirin in British male doctors. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 296(6618):313-316.
- Pettersen A, Seljeflot I, Abdelnoor M, Arnesen H. 2004. Unstable angina, stroke, myocardial infarction and death in aspirin non-responders. A prospective, randomized trial. The ASCET (ASpirin non-responsiveness and Clopidogrel Endpoint Trial) design. *Scand Cardiovasc J*, 38(6):353-356.
- Pettinella C, Romano M, Stuppia L, Santilli F, Liani R, Davi G. 2009. Cyclooxygenase-1 haplotype C50T/A-842G does not affect platelet response to aspirin. *Thromb Haemost*, 101(4):687-690.
- Phillips DR, Charo IF, Parise LV, Fitzgerald LA. 1988. The platelet membrane glycoprotein IIb-IIIa complex. *Blood*, 71(4):831-843.
- Phillips DR, Charo IF, Scarborough RM. 1991. GPIIb-IIIa: the responsive integrin. *Cell*, 65(3):359-362.
- Pleym H, Videm V, Wahba A, Asberg A, Amundsen T, Bjella L, Dale O, Stenseth R. 2006. Heparin resistance and increased platelet activation in coronary surgery patients treated with enoxaparin preoperatively. *Eur J Cardiothorac Surg*, 29(6):933-940.

- Plow EF, D'Souza SE, Ginsberg MH. 1992. Consequences of the interaction of platelet membrane glycoprotein GPIIb-IIIa (alpha IIb beta 3) and its ligands. *J Lab Clin Med*, 120(2):198-204.
- Poston RS, Gu J, Brown JM, Gammie JS, White C, Nie L, Pierson RN3, Griffith BP. 2006. Endothelial injury and acquired aspirin resistance as promoters of regional thrombin formation and early vein graft failure after coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 131(1):122-130.
- Prandoni P, Siragusa S, Girolami B, Fabris F. 2005. The incidence of heparin-induced thrombocytopenia in medical patients treated with low-molecular-weight heparin: a prospective cohort study. *Blood*, 106(9):3049-3054.
- Pulmonary Embolism Prevention (PEP) trial Collaborative Group. 2000. Prevention of pulmonary embolism and deep vein thrombosis with low dose aspirin: Pulmonary Embolism Prevention (PEP) trial. *Lancet*, 355(9212):1295-1302.
- Queen LR, Ji Y, Goubareva I, Ferro A. 2003. Nitric oxide generation mediated by beta-adrenoceptors is impaired in platelets from patients with Type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia*, 46(11):1474-1482.
- Quick AJ. 1966. Salicylates and bleeding: the aspirin tolerance test. *Am J Med Sci*, 252(3):265-269.
- Remuzzi G, Perico N, Zoja C, Corna D, Macconi D, Vigano G. 1990. Role of endothelium-derived nitric oxide in the bleeding tendency of uremia. *J Clin Invest*, 86(5):1768-1771.
- Reny J, De Moerloose P, Dauzat M, Fontana P. 2008. Use of the PFA-100 closure time to predict cardiovascular events in aspirin-treated cardiovascular patients: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost*, 6(3):444-450.
- Reverter JC, Escolar G, Sanz C, Cases A, Villamor N, Nieuwenhuis HK, Lopez J, Ordinas A. 1994. Platelet activation during hemodialysis measured through exposure of p-selectin: analysis by flow cytometric and ultrastructural techniques. *J Lab Clin Med*, 124(1):79-85.
- Riddle JM, Stein PD, Magilligan DJJ, McElroy HH. 1983. Evaluation of platelet reactivity in patients with valvular heart disease. *J Am Coll Cardiol*, 1(6):1381-1384.
- Rosove MH, Frank HJ, Harwig SS. 1984. Plasma beta-thromboglobulin, platelet factor 4, fibrinopeptide A, and other hemostatic functions during improved, short-term glycemic control in diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 7(2):174-179.

- Ross R. 1993. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*, 362(6423):801-809.
- Roth G, Majerus P. 1975. The mechanism of the effect of aspirin on human platelets, I: acetylation of a particulate fraction protein. *J Clin Invest*, 56(3):624-632.
- Ruggeri ZM. 1994. New insights into the mechanisms of platelet adhesion and aggregation. *Semin Hematol*, 31(3):229-239.
- Ruggeri ZM. 2006. Platelet interactions with vessel wall components during thrombogenesis. *Blood Cells Mol Dis*, 36(2):145-147.
- Ruggeri ZM, Mendolicchio GL. 2007. Adhesion mechanisms in platelet function. *Circ Res*, 100(12):1673-1685.
- Russo G, Leopold JA, Loscalzo J. 2002. Vasoactive substances: nitric oxide and endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Vascul Pharmacol*, 38(5):259-269.
- Sacco M, Pellegrini F, Roncaglioni MC, Avanzini F, Tognoni G, Nicolucci A. 2003. Primary prevention of cardiovascular events with low-dose aspirin and vitamin E in type 2 diabetic patients: results of the Primary Prevention Project (PPP) trial. *Diabetes Care*, 26(12):3264-3272.
- Sakariassen KS, Bolhuis PA, Sixma JJ. 1979. Human blood platelet adhesion to artery subendothelium is mediated by factor VIII-Von Willebrand factor bound to the subendothelium. *Nature*, 279(5714):636-638.
- Salzman EW, Rosenberg RD, Smith MH, Lindon JN, Favreau L. 1980. Effect of heparin and heparin fractions on platelet aggregation. *J Clin Invest*, 65(1):64-73.
- Sanioglu S, Tetik S, Sokullu O, Deniz H, Aydemir N, Yilmaz M, Arslan IY, Bilgen F. 2009. Aspirin resistance after CABG. *Thorac Cardiovasc Surg*, 57(5):281-285.
- Santos MT, Valles J, Marcus AJ, Safier LB, Broekman MJ, Islam N, Ullman HL, Eiroa AM, Aznar J. 1991. Enhancement of platelet reactivity and modulation of eicosanoid production by intact erythrocytes. A new approach to platelet activation and recruitment. *J Clin Invest*, 87(2):571-580.
- Scharf RE, Tomer A, Marzec UM, Teirstein PS, Ruggeri ZM, Harker LA. 1992. Activation of platelets in blood perfusing angioplasty-damaged coronary arteries. Flow cytometric detection. *Arterioscler Thromb*, 12(12):1475-1487.

- Scharf RE, Tomer A, Marzec UM, Teirstein PS, Ruggeri ZM, Harker LA. 1992. Activation of platelets in blood perfusing angioplasty-damaged coronary arteries. Flow cytometric detection. *Arterioscler Thromb*, 12(12):1475-1487.
- Schenkirsch G, Heier M, Stiebler J, Löwel H. 2001. Trends der Schmerzmitteleinnahme über einen Zeitraum von 10 Jahren. *Dtsch Med Wochenschr*, 126(22):643-648.
- Schonbeck U, Sukhova GK, Graber P, Coulter S, Libby P. 1999. Augmented expression of cyclooxygenase-2 in human atherosclerotic lesions. *Am J Pathol*, 155(4):1281-1291.
- Schrör K. 1999. Pharmakologie der Thrombozytenfunktionshemmung. In: Müller-Berghaus G, Pötzsch B, Hrsg. *Hämostaseologie: molekulare und zelluläre Mechanismen, Pathophysiologie und Klinik*. Erste Auflage. Berlin Heidelberg New York: Springer Verlag, 647-652.
- Schrör K. 2009. 100 years of successful drug discovery. The history of aspirin. *Pharm Unserer Zeit*, 38(4):306-313.
- Schrör K, Seidel H. 1988. Blood-vessel wall arachidonate metabolism and its pharmacological modification in a new in vitro assay system. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 337(2):177-182.
- Schultheiss HP, Tschoepe D, Esser J, Schwippert B, Roesen P, Nieuwenhuis HK, Schmidt-Soltan C, Strauer B. 1994. Large platelets continue to circulate in an activated state after myocardial infarction. *Eur J Clin Invest*, 24(4):243-247.
- Schumann A, Bucha E, Nowak G. 2005. Is platelet adhesion assay able to quantify drug-induced platelet dysfunction? *Semin Thromb Hemost*, 31(4):476-481.
- Schwartz KA, Schwartz DE, Ghosheh K, Reeves MJ, Barber K, DeFranco A. 2005. Compliance as a critical consideration in patients who appear to be resistant to aspirin after healing of myocardial infarction. *Am J Cardiol*, 95(8):973-975.
- Schwartz L, Bourassa MG, Lesperance J, Aldridge HE, Kazim F, Salvatori VA, Henderson M, Bonan R, David PR. 1988. Aspirin and dipyridamole in the prevention of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *N Engl J Med*, 318(26):1714-1719.
- Serebruany VL, Cummings CC, Malinin AI, Steinhubl SR, Gurbel PA. 2001. Uniform platelet activation exists before coronary stent implantation despite aspirin therapy. *Am Heart J*, 142(4):611-616.

- Serebruany VL, Steinhubl SR, Berger PB, Malinin AI, Bhatt DL, Topol EJ. 2005. Variability in platelet responsiveness to clopidogrel among 544 individuals. *J Am Coll Cardiol*, 45(2):246-251.
- Sharma RK, Reddy HK, Singh VN, Sharma R, Voelker DJ, Bhatt G. 2009. Aspirin and clopidogrel hyporesponsiveness and nonresponsiveness in patients with coronary artery stenting. *Vasc Health Risk Manag*, 5(1):965-972.
- Shattil SJ, Brass LF. 1987. Induction of the fibrinogen receptor on human platelets by intracellular mediators. *J Biol Chem*, 262(3):992-1000.
- Shattil SJ, Ginsberg MH, Brugge JS. 1994. Adhesive signaling in platelets. *Curr Opin Cell Biol*, 6(5):695-704.
- Shen H, Herzog W, Drolet M, Pakyz R, Newcomer S, Sack P, Karon H, Ryan KA, Zhao Y, Shi X, Mitchell BD, Shuldiner AR. 2009. Aspirin Resistance in healthy drug-naïve men versus women (from the Heredity and Phenotype Intervention Heart Study). *Am J Cardiol*, 104(4):606-612.
- Shinohara H, Fukuda N, Soeki T, Takeichi N, Yui Y, Tamura Y, Oki T. 1998. Relationship between flow dynamics in the left atrium and hemostatic abnormalities in patients with nonvalvular atrial fibrillation. *Jpn Heart J*, 39(6):721-730.
- Siess W. 1989. Molecular mechanisms of platelet activation. *Physiol Rev*, 69(1):58-178.
- Singla A, Antonino MJ, Bliden KP, Tantry US, Gurbel PA. 2009. The relation between platelet reactivity and glycemic control in diabetic patients with cardiovascular disease on maintenance aspirin and clopidogrel therapy. *Am Heart J*, 158(5):784.e1-6.
- Sixma JJ, van Zanten GH, Banga JD, Nieuwenhuls HK, de Groot PG. 1995. Platelet adhesion. *Semin Hematol*, 32(2):89-98.
- Smith CJ, Sun D, Hoegler C, Roth BS, Zhang X, Zhao G, Xu XB, Kobari Y, Pritchard KJ, Sessa WC, Hintze TH. 1996. Reduced gene expression of vascular endothelial NO synthase and cyclooxygenase-1 in heart failure. *Circ Res*, 78(1):58-64.
- Smith WL. 1992. Prostanoid biosynthesis and mechanisms of action. *Am J Physiol*, 263(2):F181-91.
- Sneider W. 2000. The discovery of aspirin: a reappraisal. *BMJ*, 321(7276):1591-1594.

- Snoep JD, Hovens MMC, Eikenboom JCJ, van der Bom JG, Huisman MV. 2007. Association of laboratory-defined aspirin resistance with a higher risk of recurrent cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med*, 167(15):1593-1599.
- Statistisches Bundesamt. 2008. Todesursachen in Deutschland. [www.destatis.de](http://www.destatis.de), Fachserie 12 (Reihe 4):8.
- Steering Committee of the Physicians' Health Study Research Group. 1989. Final report on the aspirin component of the ongoing Physicians' Health Study. *N Engl J Med*, 321(3):129-135.
- Steinhubl SR, Berger PB, Mann JT3, Fry ETA, DeLago A, Wilmer C, Topol EJ. 2002. Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial. *JAMA*, 288(19):2411-2420.
- Stejskal D, Vaclavik J, Lacnak B, Proskova J. 2006. Aspirin resistance measured by cationic propyl gallate platelet aggregometry and recurrent cardiovascular events during 4 years of follow-up. *Eur J Intern Med*, 17(5):349-354.
- Stel HV, Sakariassen KS, de Groot PG, van Mourik JA, Sixma JJ. 1985. Von Willebrand factor in the vessel wall mediates platelet adherence. *Blood*, 65(1):85-90.
- Storey RF, May JA, Heptinstall S. 2005. Potentiation of platelet aggregation by heparin in human whole blood is attenuated by P2Y<sub>12</sub> and P2Y<sub>1</sub> antagonists but not aspirin. *Thromb Res*, 115(4):301-307.
- Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Investigators. 1990. Preliminary report of the Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Study. *N Engl J Med*, 322(12):863-868.
- Svenstrup Poulsen T, Risom Kristensen S, Atar D, Mickley H. 2005. A critical appraisal of the phenomenon of aspirin resistance. *Cardiology*, 104(2):83-91.
- Swedberg K, Cleland J, Dargie H, Drexler H, Follath F, Komajda M, Tavazzi L, Smiseth OA, Gavazzi A, Haverich A, Hoes A, Jaarsma T, Korewicki J, Levy S, Linde C, Lopez-Sendon J, Nieminen MS, Pierard L, Remme WJ. 2005. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary (update 2005): The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*, 26(11):1115-1140.
- Sweeny JM, Gorog DA, Fuster V. 2009. Antiplatelet drug 'resistance'. Part 1: mechanisms and clinical measurements. *Nat Rev Cardiol*, 6(4):273-282.

- Tamminen M, Lassila R, Westerbacka J, Vehkavaara S, Yki-Jarvinen H. 2003. Obesity is associated with impaired platelet-inhibitory effect of acetylsalicylic acid in nondiabetic subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 27(8):907-911.
- Tavassoli M. 1980. Megakaryocyte--platelet axis and the process of platelet formation and release. *Blood*, 55(4):537-545.
- The Aspirin Myocardial Infarction Study research group. 1980. The aspirin myocardial infarction study: final results [abstract]. In: Proceedings of the Workshop on platelet-active drugs in the secondary prevention of cardiovascular events. National Institutes of Health. Bethesda, Maryland: *Circulation*, 62(6 Pt 2):V79-84.
- The Coronary Drug Project Research Group. 1980. Aspirin in coronary heart disease [abstract]. In: Proceedings of the Workshop on platelet-active drugs in the secondary prevention of cardiovascular events. National Institutes of Health. Bethesda, Maryland: *Circulation*, 62(6 Pt 2):V59-62.
- The Dutch TIA Trial Study Group. 1991. A comparison of two doses of aspirin (30 mg vs. 283 mg a day) in patients after a transient ischemic attack or minor ischemic stroke. *N Engl J Med*, 325(18):1261-1266.
- The Medical Research Council's General Practice Research Framework. 1998. Thrombosis prevention trial: randomised trial of low-intensity oral anticoagulation with warfarin and low-dose aspirin in the primary prevention of ischaemic heart disease in men at increased risk. *Lancet*, 351(9098):233-241.
- The Persantine-aspirin Reinfarction Study (PARIS) research group. 1980. The Persantine-aspirin reinfarction study [abstract]. In: Proceedings of the Workshop on platelet-active drugs in the secondary prevention of cardiovascular events. National Institutes of Health. Bethesda, Maryland: *Circulation*, 62(6 Pt 2):V85-8.
- The RISC Group. 1990. Risk of myocardial infarction and death during treatment with low dose aspirin and intravenous heparin in men with unstable coronary artery disease. *Lancet*, 336(8719):827-830.
- The SALT Collaborative Group. 1991. Swedish Aspirin Low-Dose Trial (SALT) of 75 mg aspirin as secondary prophylaxis after cerebrovascular ischaemic events. *Lancet*, 338(8779):1345-1349.
- The Swedish Cooperative Study Group. 1987. High-dose acetylsalicylic acid after cerebral infarction. A Swedish Cooperative Study. *Stroke*, 18(2):325-334.



- Theroux P, Ouimet H, McCans J, Latour JG, Joly P, Levy G, Pelletier E, Juneau M, Stasiak J, deGuise P. 1988. Aspirin, heparin, or both to treat acute unstable angina. *N Engl J Med*, 319(17):1105-1111.
- Thomson C, Forbes CD, Prentice CR. 1973. The potentiation of platelet aggregation and adhesion by heparin in vitro and in vivo. *Clin Sci Mol Med*, 45(4):485-494.
- Thomson VS, John B, George P, Joseph G, Jose J. 2009. Aspirin resistance in Indian patients with coronary artery disease and cardiovascular events. *J Postgrad Med*, 55(4):252-256.
- Tomaselli L, Cerletti C, de Gaetano G, Notarbartolo A, Davi G, Pupillo M. 1990. Normal platelet function, but increased platelet activation in vivo in diabetic patients. *Thromb Haemost*, 64(4):604.
- Topol EJ. 1998. Toward a new frontier in myocardial reperfusion therapy: emerging platelet preeminence. *Circulation*, 97(2):211-218.
- Toth O, Calatzis A, Penz S, Losonczy H, Siess W. 2006. Multiple electrode aggregometry: a new device to measure platelet aggregation in whole blood. *Thromb Haemost*, 96(6):781-788.
- Trip MD, Cats VM, van Capelle FJ, Vreeken J. 1990. Platelet hyperreactivity and prognosis in survivors of myocardial infarction. *N Engl J Med*, 322(22):1549-1554.
- Tschoepe D. 1995. The activated megakaryocyte-platelet-system in vascular disease: focus on diabetes. *Semin Thromb Hemost*, 21(2):152-160.
- Tschoepe D, Roesen P, Kaufmann L, Schauseil S, Kehrel B, Ostermann H, Gries FA. 1990. Evidence for abnormal platelet glycoprotein expression in diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest*, 20(2):166-170.
- Tschoepe D, Roesen P, Schwippert B, Gries FA. 1993a. Platelets in diabetes: the role in the hemostatic regulation in atherosclerosis. *Semin Thromb Hemost*, 19(2):122-128.
- Tschoepe D, Schultheiss HP, Kolarov P, Schwippert B, Dannehl K, Nieuwenhuis HK, Kehrel B, Strauer B, Gries FA. 1993b. Platelet membrane activation markers are predictive for increased risk of acute ischemic events after PTCA. *Circulation*, 88(1):37-42.
- Tschoepe D, Schultheiss HP, Kolarov P, Schwippert B, Dannehl K, Nieuwenhuis HK, Kehrel B, Strauer B, Gries FA. 1993b. Platelet membrane activation markers are predictive for increased risk of acute ischemic events after PTCA. *Circulation*, 88(1):37-42.

- Ulbricht K. 2002. PEG-Hirudin als Antikoagulanz in der chronischen Nierenersatztherapie [Dissertation]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität.
- Undas A, Brummel K, Musial J, Mann KG, Szczeklik A. 2001. Pl(A2) polymorphism of beta(3) integrins is associated with enhanced thrombin generation and impaired antithrombotic action of aspirin at the site of microvascular injury. *Circulation*, 104(22):2666-2672.
- Urban P, Macaya C, Rupprecht HJ, Kiemeneij F, Emanuelsson H, Fontanelli A, Pieper M, Wesseling T, Sagnard L. 1998. Randomized evaluation of anticoagulation versus antiplatelet therapy after coronary stent implantation in high-risk patients: the multicenter aspirin and ticlopidine trial after intracoronary stenting (MATTIS). *Circulation*, 98(20):2126-2132.
- Valettas N, Morgan, CD, Reis, M. 1997. Aspirin resistance using flow cytometry [abstract]. *Blood*, 90(Suppl 1):124B.
- Valles J, Santos MT, Aznar J, Osa A, Lago A, Cosin J, Sanchez E, Broekman MJ, Marcus AJ. 1998. Erythrocyte promotion of platelet reactivity decreases the effectiveness of aspirin as an antithrombotic therapeutic modality: the effect of low-dose aspirin is less than optimal in patients with vascular disease due to prothrombotic effects of erythrocytes on platelet reactivity. *Circulation*, 97(4):350-355.
- Valles J, Santos MT, Fuset MP, Moscardo A, Ruano M, Perez F, Pinon M, Brena S, Aznar J. 2007. Partial inhibition of platelet thromboxane A2 synthesis by aspirin is associated with myonecrosis in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Am J Cardiol*, 99(1):19-25.
- Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. 1998. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 38(1):97-120.
- Varol E, Akcay S, Ozaydin M, Erdogan D, Dogan A. 2009a. Mean platelet volume in patients with coronary artery ectasia. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 20(5):321-324.
- Varol E, Ozaydin M, Turker Y, Alaca S. 2009b. Mean platelet volume, an indicator of platelet activation, is increased in patients with mitral stenosis and sinus rhythm. *Scand J Clin Lab Invest*, 69(6):708-712.
- Viener A, Aviram M, Better OS, Brook JG. 1986. Enhanced in vitro platelet aggregation in hemodialysis patients. *Nephron*, 43(2):139-143.

- Vinik AI, Erbas T, Park TS, Nolan R, Pittenger GL. 2001. Platelet dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 24(8):1476-1485.
- von Pape KW, Aland E, Bohner J. 2000. Platelet function analysis with PFA-100 in patients medicated with acetylsalicylic acid strongly depends on concentration of sodium citrate used for anticoagulation of blood sample. *Thromb Res*, 98(4):295-299.
- Vorchheimer DA, Becker R. 2006. Platelets in atherothrombosis. *Mayo Clin Proc*, 81(1):59-68.
- Wallentin L, Becker RC, Budaj A, Cannon CP, Emanuelsson H, Held C, Horrow J, Husted S, James S, Katus H, Mahaffey KW, Scirica BM, Skene A, Steg PG, Storey RF, Harrington RA, Freij A, Thorsen M. 2009. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med*, 361(11):1045-1057.
- Warkentin TE, Kelton JG. 2001. Temporal aspects of heparin-induced thrombocytopenia. *N Engl J Med*, 344(17):1286-1292.
- Warkentin TE, Levine MN, Hirsh J, Horsewood P, Roberts RS, Gent M, Kelton JG. 1995. Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low-molecular-weight heparin or unfractionated heparin. *N Engl J Med*, 332(20):1330-1335.
- Warkentin TE, Makris M, Jay RM, Kelton JG. 2008. A spontaneous prothrombotic disorder resembling heparin-induced thrombocytopenia. *Am J Med*, 121(7):632-636.
- Warkentin TE, Sheppard JI, Sigouin CS, Kohlmann T, Eichler P, Greinacher A. 2006. Gender imbalance and risk factor interactions in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood*, 108(9):2937-2941.
- Watala C, Pluta J, Golanski J, Rozalski M, Czyz M, Trojanowski Z, Drzewoski J. 2005. Increased protein glycation in diabetes mellitus is associated with decreased aspirin-mediated protein acetylation and reduced sensitivity of blood platelets to aspirin. *J Mol Med*, 83(2):148-158.
- Weber AA, Zimmermann KC, Meyer-Kirchrath J, Schrör K. 1999. Cyclooxygenase-2 in human platelets as a possible factor in aspirin resistance. *Lancet*, 353(9156):900.
- Weber A, Przytulski B, Schumacher M, Zimmermann N, Gams E, Hohlfeld T, Schrör K. 2002. Flow cytometry analysis of platelet cyclooxygenase-2 expression: induction of platelet cyclooxygenase-2 in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Br J Haematol*, 117(2):424-426.

- Weber AA, Liesener S, Schanz A, Hohlfeld T, Schrör K. 2000. Habitual smoking causes an abnormality in platelet thromboxane A2 metabolism and results in an altered susceptibility to aspirin effects. *Platelets*, 11(3):177-182.
- Weber AA, Zimmermann KC, Meyer-Kirchrath J, Schrör K. 1999. Cyclooxygenase-2 in human platelets as a possible factor in aspirin resistance. *Lancet*, 353(9156):900.
- Webster SE, Payne DA, Jones CI, Hayes PD, Bell PRF, Goodall AH, Naylor AR. 2004. Anti-platelet effect of aspirin is substantially reduced after administration of heparin during carotid endarterectomy. *J Vasc Surg*, 40(3):463-468.
- Weiss H, Aledort L. 1967. Impaired platelet-connective-tissue reaction in man after aspirin investigation. *Lancet*, 2(7514):495-497.
- Wenaweser P, Hess O. 2005. Stent thrombosis is associated with an impaired response to antiplatelet therapy. *J Am Coll Cardiol*, 46(5):CS5-6.
- Westwick J, Scully MF, Poll C, Kakkar VV. 1986. Comparison of the effects of low molecular weight heparin and unfractionated heparin on activation of human platelets in vitro. *Thromb Res*, 42(4):435-447.
- White C, Chaitman B, Lassar T. 1987. Antiplatelet agents are effective in reducing the immediate complications of PTCA: results of the ticlopidine multicenter trial. *Circulation*, 76(Suppl IV ):IV-400.
- White JG. 1994. Platelets and atherosclerosis. *Eur J Clin Invest*, 24 (Suppl 1):25-29.
- Willerson JT, Golino P, Eidt J, Campbell WB, Buja LM. 1989. Specific platelet mediators and unstable coronary artery lesions. Experimental evidence and potential clinical implications. *Circulation*, 80(1):198-205.
- Winocour PD. 1994. Platelet turnover in advanced diabetes. *Eur J Clin Invest*, 24(Suppl 1):34-37.
- Witthauer K. 1899. Aspirin, ein neues Salicylpräparat. *Heilkunde*, 3():396-398.
- Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, Montalescot G, Ruzyllo W, Gottlieb S, Neumann F, Ardissino D, De Servi S, Murphy SA, Riesmeyer J, Weerakkody G, Gibson CM, Antman EM. 2007. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med*, 357(20):2001-2015.

- Wong C, French JK, Gao W, White HD. 2002. Relation of initial platelet counts to Thrombolysis In Myocardial Infarction-3 flow rates at 90 minutes after commencing fibrinolytic therapy in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*, 90(1):54-57.
- Wong S, Morel-Kopp M, Chen Q, Appleberg M, Ward CM, Lewis DR. 2006. Overcoming aspirin resistance: increased platelet inhibition with combination aspirin and clopidogrel and high dose aspirin therapy in aspirin resistant patients with peripheral vascular disease. *Thromb Haemost*, 95(6):1042-1043.
- Woods VLJ, Wolff LE, Keller DM. 1986. Resting platelets contain a substantial centrally located pool of glycoprotein IIb-IIIa complex which may be accessible to some but not other extracellular proteins. *J Biol Chem*, 261(32):15242-15251.
- Xiao Z, Theroux P. 1998. Platelet activation with unfractionated heparin at therapeutic concentrations and comparisons with a low-molecular-weight heparin and with a direct thrombin inhibitor. *Circulation*, 97(3):251-256.
- Xie W, Chipman J, Robertson D, Erikson R, Simmons D. 1991. Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 88(7):2692-2696.
- Yngen M, Ostenson C, Hu H, Li N, Hjemdahl P, Wallen NH. 2004. Enhanced P-selectin expression and increased soluble CD40 Ligand in patients with Type 1 diabetes mellitus and microangiopathy: evidence for platelet hyperactivity and chronic inflammation. *Diabetologia*, 47(3):537-540.
- Youssefian T, Masse JM, Rendu F, Guichard J, Cramer EM. 1997. Platelet and megakaryocyte dense granules contain glycoproteins Ib and IIb-IIIa. *Blood*, 89(11):4047-4057.
- Yusuf S, Sleight P, Pogue J, Bosch J, Davies R, Dagenais G. 2000. Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med*, 342(3):145-153.
- Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, Chrolavicius S, Tognoni G, Fox KK. 2001. Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. *N Engl J Med*, 345(7):494-502.
- Zettl H, Schubert-Zsilavecz M. 2009. Medizinische Chemie der Thrombozytenaggregationshemmer. *Pharm Unserer Zeit*, 38(4):314-318.

- Zimmermann N, Hohlfeld T. 2008. Clinical implications of aspirin resistance. *Thromb Haemost*, 100(3):379-390.
- Zimmermann N, Weber A, Hohlfeld T. 2008. Aspirin "Resistance". *Herz*, 33(4):270-278.
- Zimmermann N, Wenk A, Kim U, Kienzle P, Weber A, Gams E, Schrör K, Hohlfeld T. 2003. Functional and biochemical evaluation of platelet aspirin resistance after coronary artery bypass surgery. *Circulation*, 108(5):542-547.

## 9 Anhang

### 9.1 Probanden- und Patientenaufklärungen

Name des Teilnehmers:

.....

Lieber Proband,

Sie werden gebeten an folgender Studie teilzunehmen:

Untersuchungen zur Wirkung von Acetylsalicylsäure (ASS, Aspirin®) bei gesunden Probanden im Vergleich zu Patienten mit einer kardiovaskulären Erkrankung.

Die medikamentöse Therapie in der kardiovaskulären Medizin zur Verbesserung der Fließeigenschaften des Blutes erfolgt durch die Gabe von sogenannten Thrombozytenaggregationshemmern, wie beispielsweise ASS. Durch diese Behandlung wird das Risiko einer Thrombose und eines dadurch entstehenden Herzinfarktes und Schlaganfalls gesenkt.

Die medikamentöse Wirkung von ASS ist jedoch nicht bei allen Patienten identisch.

In Studien konnte gezeigt werden, dass ASS bei bestimmten Patienten keine Blutplättchenhemmung bewirkt.

Im Rahmen dieser Untersuchungen wird ein neuer Test zur Erfassung der Wirksamkeit von ASS auf die Blutplättchen sowie zur generellen Untersuchung der Plättchenfunktion angewendet. *Mit Hilfe einer einmaligen Blutentnahme kann im Labor festgestellt werden, ob ASS bei Ihnen eine ausreichende Wirkung erzielt.*

Das Ergebnis dieser Untersuchung zieht keine therapeutische Konsequenz nach sich.

Die Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig.

Die Nichtteilnahme an der Studie ergibt für Sie keine Nachteile.

Es besteht das generelle Risiko einer Blutentnahme.

Anhang

Name des Teilnehmers:

.....

Lieber Proband,

Sie werden gebeten an folgender Studie teilzunehmen:

Untersuchungen zur Wirkung von Acetylsalicylsäure (ASS, Aspirin®) bei gesunden Probanden im Vergleich zu Patienten mit einer kardiovaskulären Erkrankung.

Die medikamentöse Therapie in der kardiovaskulären Medizin zur Verbesserung der Fließeigenschaften des Blutes erfolgt durch die Gabe von sogenannten Thrombozytenaggregationshemmern, wie beispielsweise ASS. Durch diese Behandlung wird das Risiko einer Thrombose und eines dadurch entstehenden Herzinfarktes und Schlaganfalles gesenkt.

Die medikamentöse Wirkung von ASS ist jedoch nicht bei allen Patienten identisch.

In Studien konnte gezeigt werden, dass ASS bei bestimmten Patienten keine Blutplättchenhemmung bewirkt.

Im Rahmen unserer Untersuchungen wird ein neuer Test zur Erfassung der Wirksamkeit von ASS auf die Blutplättchen sowie zur generellen Untersuchung der Plättchenfunktion angewendet. *Mit Hilfe einer einmaligen Blutentnahme kann im Labor festgestellt werden, ob ASS bei Ihnen eine ausreichende Wirkung erzielt. Dies wird mit zwei verschiedenen Labortests ermittelt und verglichen werden.*

Das Ergebnis dieser Untersuchung zieht keine therapeutische Konsequenz nach sich.

Die Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig.

Die Nichtteilnahme an der Studie ergibt für Sie keine Nachteile.

Es besteht das generelle Risiko einer Blutentnahme.



Name des Teilnehmers:

.....

Lieber Proband,

Sie werden gebeten an folgender Studie teilzunehmen:

Untersuchungen zur Wirkung von Acetylsalicylsäure (ASS, Aspirin®) bei gesunden Probanden im Vergleich zu Patienten mit einer kardiovaskulären Erkrankung.

Die medikamentöse Therapie in der kardiovaskulären Medizin zur Verbesserung der Fließeigenschaften des Blutes erfolgt durch die Gabe von sogenannten Thrombozytenaggregationshemmern, wie beispielsweise ASS. Durch diese Behandlung wird das Risiko einer Thrombose und eines dadurch entstehenden Herzinfarktes und Schlaganfalles gesenkt.

Die medikamentöse Wirkung von ASS ist jedoch nicht bei allen Patienten identisch.

In Studien konnte gezeigt werden, dass ASS bei bestimmten Patienten keine Blutplättchenhemmung bewirkt.

Im Rahmen unserer Untersuchungen wird ein neuer Test zur Erfassung der Wirksamkeit von ASS auf die Blutplättchen sowie zur generellen Untersuchung der Plättchenfunktion angewendet. *Mit Hilfe einer einmaligen Blutentnahme kann im Labor festgestellt werden, ob ASS bei Ihnen eine ausreichende Wirkung erzielt.*

*Zur Beurteilung der Reproduzierbarkeit des neuen Tests erfolgt die Laboruntersuchung Ihrer Blutprobe mehrmalig.*

Das Ergebnis dieser Untersuchung zieht für Sie keine therapeutische Konsequenz nach sich.

Die Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig.

Sie können diese Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen entziehen.

Die Nichtteilnahme an der Studie ergibt für Sie keine Nachteile.

Es besteht das generelle Risiko einer Blutentnahme.

## 9.2 Probandeninformation und Einverständniserklärung

AG „Pharmakologische Hämostaseologie“  
Medizinische Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena  
Herr Prof. Dr. med. Götz Nowak  
cand. med. Julia Hentrich, cand. med. Tina Kaden  
Drackendorfer Straße 1  
07747 Jena  
Tel.: 03641/9325701

### Untersuchung von Gerinnungsparametern - Aspirinresistenzmessung

#### Probandeninformation

Sehr geehrter Proband/ Sehr geehrte Probandin,

im Rahmen unserer Doktorarbeit möchten wir die Häufigkeit der Aspirinresistenz bei Patienten mit akuten kardiologischen Erkrankungen bzw. nephrologischen Erkrankungen mit Dialysepflicht ermitteln. Um einen Vergleich mit gesunden Probanden herstellen zu können, benötigen wir eine sogenannte gesunde Kontrollgruppe. Hierfür werden Ihnen max. 15 ml Blut aus der Vene entnommen, um Ihre Gerinnungsparameter mit denen der schwer kranken Patienten vergleichen zu können. Selbstverständlich werden bei dieser Studie die Vorschriften über die ärztliche Schweigepflicht und den Datenschutz eingehalten. Es werden persönliche Daten und Befunde über Sie erhoben, gespeichert und nur in verschlüsselter Form weitergegeben. Es kann Einsicht in die Originaldaten nur durch autorisierte Personen genommen werden. Im Falle von Veröffentlichungen der Ergebnisse bleibt die Vertraulichkeit Ihrer persönlichen Daten gewährleistet.

#### Probandeneinverständniserklärung

Auf Grundlage der Probandeninformation und mündlicher Erläuterung erkläre ich mich zur Teilnahme an der Aspirinresistenzmessung bereit und gebe mein Einverständnis, dass die über mich erhobenen Daten in verschlüsselter Form für wissenschaftliche Zwecke genutzt werden. Etwaige Fragen meinerseits wurden beantwortet.

Name: .....

Vorname: .....

.....  
Ort/Datum

.....  
Unterschrift Proband

.....  
Unterschrift Doktorand

## 9.3 Fragebogen

AG „Pharmakologische Hämostaseologie“  
Medizinische Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena  
Herr Prof. Dr. med. Götz Nowak  
cand. med. Julia Hentrich, cand. med. Tina Kaden  
Drackendorfer Straße 1  
07747 Jena  
Tel.: 03641/9325701

### Untersuchung von Gerinnungsparametern - Aspirinresistenzmessung Gesunde Probanden

Sehr geehrte Probandin/ Sehr geehrter Proband,

hiermit möchten wir uns zunächst für Ihre Teilnahme an unseren Messungen zur Aspirinresistenz bedanken.

Um ein wissenschaftlich relevantes Ergebnis erzielen zu können, benötigen wir zusätzlich einige Angaben von Ihnen und bitten Sie daher, die folgenden Fragen zu beantworten:

Name: .....

Vorname: .....

1. Besteht bzw. bestand bei Ihnen eine Erkrankung des Herzens, beispielsweise Herzrhythmusstörungen, Erkrankungen der Herzkranzgefäße (sogenannte Koronare Herzerkrankung, KHK) oder ein Herzinfarkt?

☐ Nein ☐ Ja

Wenn ja, welche? .....  
.....

2. Leiden Sie an Bluthochdruck?

☐ Nein ☐ Ja

3. Leiden Sie an Diabetes mellitus?

☐ Nein ☐ Ja

4. Besteht bei Ihnen eine Erkrankung der Nieren, beispielsweise eine Niereninsuffizienz mit Dialysepflicht, eine chronische Entzündung oder zystische Veränderungen der Nieren?

☐ Nein ☐ Ja

Wenn ja, welche? .....  
.....

5. Ist bei Ihnen oder in Ihrer Familie eine Gerinnungsstörung bekannt?

☐ Nein ☐ Ja

Wenn ja, welche? .....

.....  
6. Sind bei Ihnen bisher operative Eingriffe erfolgt?

☐ Nein ☐ Ja

Wenn ja, welche? .....

.....  
7. Besteht eine Allergie (z.B. Asthma, Heuschnupfen) oder eine  
Überempfindlichkeitsreaktion, beispielsweise gegen Medikamente?

☐ Nein ☐ Ja

Wenn ja, welche? .....

.....  
8. Erfolgte bei Ihnen in der Vergangenheit eine Behandlung mit Heparin,  
beispielsweise zur Thromboseprophylaxe im Zuge eines  
Krankenhausaufenthaltes?

☐ Nein ☐ Ja

9. Nehmen Sie regelmäßig Medikamente, insbesondere Aspirin, Antikoagulantien  
(z.B. Falithrom) oder hormonelle Kontrazeptiva („die Pille“ zur Verhütung) ein ?

☐ Nein ☐ Ja

Wenn ja, welche? .....

.....  
10. Bestanden bei Ihnen zum Untersuchungszeitpunkt bzw. unmittelbar davor akute  
Erkrankungen, eine Schwangerschaft bzw. andere Besonderheiten?

☐ Nein ☐ Ja

Wenn ja, welche? .....

.....  
11. Rauchen Sie regelmäßig?

☐ Nein ☐ Ja

Wir bedanken uns herzlich für Ihre Bemühung.

## **9.4 Veröffentlichungen im Rahmen dieser Arbeit**

Kaden T, Hentrich J, Nowak G. 2009. Prevalence and profile of aspirin resistance in patients with cardiovascular diseases in comparison to healthy volunteers. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 7(Suppl 2):PP-WE-739 [abstract]

Hentrich J, Kaden T, Nowak G. 2009. Prevalence and profile of aspirin resistance in haemodialysis patients in comparison to healthy volunteers. *Hämostaseologie*, 29:A63 [abstract]

Nowak G, Kaden T, Hentrich J. 2009. Is heparin-induced thrombocytopenia Type II (HIT II) an autoimmune disease? *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 7(Suppl 2):PP-MO-700 [abstract]

## 9.5 Lebenslauf

### **Persönliche Daten**

---

Name	Tina Kaden
Geburtsdatum	22. Oktober 1984
Geburtsort	Suhl

### **Schul- und Hochschulausbildung**

---

08/1996 – 06/2003	Hennebergisches Gymnasium „Georg Ernst“, Schleusingen
06/2003	Allgemeine Hochschulreife
10/2003 – 06/2010	Studium der Humanmedizin an der Friedrich-Schiller-Universität Jena
09/2005	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung FSU Jena
06/2010	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung FSU Jena
07/2010	Approbation als Ärztin

### **Praktisches Jahr**

---

02/2009 – 06/2009	Priv. Doz. Dr. med. Malessa, Klinik für Neurologie und Klinische Neurophysiologie, Sophien- und Hufeland-Klinikum, Weimar
06/2009 – 10/2009	Prof. Dr. med. Kohler, Klinik für Innere Medizin, Spital Netz Bern – Tiefenau, Bern
10/2009 – 01/2010	Dr. med. habil. Bach, Klinik für Unfall- und Wiederherstellungschirurgie, Sophien- und Hufeland-Klinikum, Weimar

### **Berufliche Tätigkeit**

---

Seit 09/2010	Ärztin in Weiterbildung für Innere Medizin, PD Dr. med. habil. F. Meier, Thüringen-Kliniken „Georgius Agricola“ GmbH, Standort Rudolstadt
--------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Jena, den 29.10.2010

Tina Kaden

## 9.6 Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei allen herzlich bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Univ. Prof. Dr. med. Götz Nowak für die Überlassung des Themas, die Möglichkeit der Durchführung der Messungen im Labor der AG „Pharmakologische Hämostaseologie“, seine wissenschaftliche Betreuung, die Durchsicht des Manuskripts sowie seine stetige freundliche und aufgeschlossene Unterstützung. Herrn Univ. Prof. Dr. med. Hans-Reiner Figulla gebührt mein Dank für die Möglichkeit, die Studie an seiner Klinik durchführen zu können.

Bei allen Patienten und unseren lieben Probanden möchte ich mich herzlich bedanken, ohne sie wäre die Durchführung der Studie nicht möglich gewesen.

Weiterhin danke ich allen ehemaligen Mitarbeitern der AG „Pharmakologische Hämostaseologie“ für die freundliche Aufnahme im Labor und dafür, dass sie uns stets mit Rat und Tat zur Seite standen. Insbesondere möchte ich hierbei Frau Dipl.-Ing. Ines Neubauer nennen, die durch ihre ausdauernde und kontinuierliche Unterstützung und kritische Diskussion der Daten sehr zum Gelingen der Arbeit beigetragen hat. Frau Prof. Dr. med. Heide Sperschneider gilt mein Dank für die hilfreiche Beratung und Motivation. Ebenso danke ich Herrn PD Dr. Dr. med. Markus Ferrari, Herrn Dr. med. Markus Schlosser und Herrn Jan Hutschenreuter für die Unterstützung und gute Zusammenarbeit nicht nur während der Rekrutierung der kardiovaskulären Patienten und deren Probengewinnungen. Frau Antje Brandstädt und Herrn Thomas Martin gebührt mein Dank für die ausgezeichnete Hilfestellung bei der statistischen Auswertung.

Nicht genug danken kann ich Julia Hentrich für die wunderbare Zusammenarbeit und Motivation sowie die zahlreichen anregenden Diskussionen.

Danke meinen Eltern Simone und Wolfgang Kaden für die allumfassende Unterstützung auf meinem Lebensweg sowie meiner Schwester Sandra Kaden für die hilfreiche Durchsicht des Manuskripts und zahlreichen Anregungen.

Mein größter Dank und tiefe Verbundenheit gilt meinem lieben Peter für seine großartige und bedingungslose Unterstützung in jeder Hinsicht.

## 9.7 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass

- mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena bekannt ist,
- ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,
- mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes unterstützt haben:

Herr Professor Dr. med. Götz Nowak

Frau Dipl.-Ing. Ines Neubauer

Frau Antje Brandstädt

- die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde,
- Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen und
- ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe

Jena, den 29.10.2010

Tina Kaden